Tratado de Nutrición

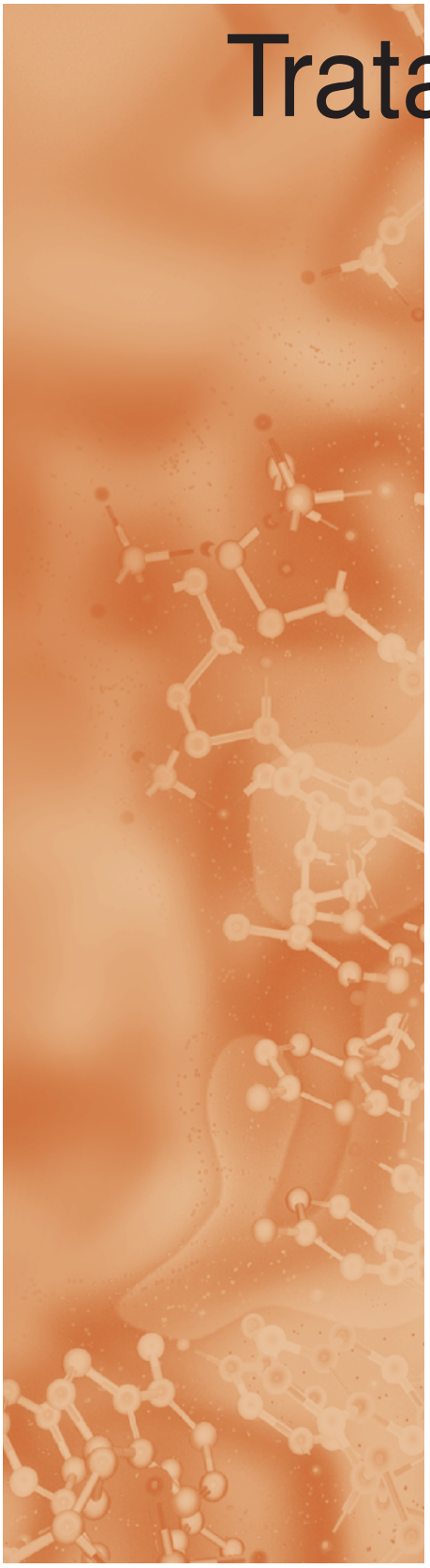
Editor Ángel Gil Hernández

Tomo I

Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición

Coeditor

Fermín Sánchez de Medina Contreras



Tratado de Nutrición

Editor: Ángel Gil Hernández

Tomo I

Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición

Coeditor

Fermín Sánchez de Medina Contreras

Sumario

1.1. Introducción a la historia de la Nutrición 1
Gregorio Varela Mosquera, Gregorio Varela Moreiras

1.2. Funciones y metabolismo de los nutrientes 19
Ángel Gil Hernández, Fermín Sánchez de Medina Contreras

1.3. Bases bioquímicas de la regulación metabólica 53
José Antonio Gómez Capilla, José Miguel Fernández Fernández, Carolina Gómez Llorente

1.4. Comunicación intercelular: hormonas, eicosanoides, factores de crecimiento y citokinas 81
Ángel Gil Hernández, Fermín Sánchez de Medina Contreras

1.5. Señalización celular 131
Antonio Suárez García

1.6. Síntesis, degradación y recambio de las proteínas 177
Ángel Gil Hernández, Fermín Sánchez de Medina Contreras

1.7. Regulación de la expresión génica en organismos eucariotas 217
Luis Fontana Gallego, María José Sáez Lara

1.8. Fisiología de la digestión 249
Emilio Martínez de Victoria Muñoz, Mariano Mañas Almendros, María Dolores Yago Torregrosa

1.9. Metabolismo de los hidratos de carbono 295
Olga Martínez Augustin, Víctor Puerta Fernández, María Dolores Suárez Ortega

1.10. Fibra dietética 337
Antonio Zarzuelo Zurita, Julio Gálvez Peralta

1.11. Metabolismo de las lipoproteínas 369
Antonio Sánchez Pozo, María de los Ángeles Ortega de la Torre

1.12. Metabolismo lipídico tisular 397
Antonio Sánchez Pozo, María de los Ángeles Ortega de la Torre

1.13. Funciones biológicas y metabolismo de los ácidos grasos esenciales y de sus derivados activos 429
Alfonso Valenzuela Bonomo, Ricardo Uauy Dagach-Imbarack

1.14. Metabolismo de los aminoácidos 451
Fermín Sánchez de Medina Contreras

1.15. Aminoácidos semiesenciales y derivados de aminoácidos de interés nutricional 485
Ángel Gil Hernández, Fermín Sánchez de Medina Contreras

1.16. Metabolismo de nucleótidos 523
Ángel Gil Hernández, Antonio Sánchez Pozo

1.17. Relaciones metabólicas tisulares en el ciclo de ayuno y realimentación 561
Olga Martínez Augustin, Víctor Puerta Fernández, María Dolores Suárez Ortega

1.18. Regulación del balance energético y de la composición corporal 591
María del Puy Portillo Baquedano, José Alfredo Martínez Hernández

1.19. Estrés oxidativo y mecanismos de defensa antioxidante 623
Marina Martínez Cayuela

1.20. Vitamina C, vitamina E y otros antioxidantes de origen alimentario 659
María del Carmen Ramírez Tortosa, José Luis Quiles Morales

1.21. Vitaminas con función de coenzimas 695
Fermín Sánchez de Medina Contreras

1.22. Ácido fólico y vitamina B_{12} 731
Gregorio Varela Moreiras

1.23. Vitamina A 755
Rosa María Ortega Anta, María del Carmen Mena Valverde, Pedro Andrés Carvajales

1.24. Vitamina D 789
Olga Martínez Augustin, Víctor Puerta Fernández, María Dolores Suárez Ortega

1.25. Metabolismo hidromineral: agua y electrólitos 825
José Miguel López Novoa

659-997

1.26. Regulación del equilibrio ácido-base 865
José Miguel López Novoa

1.27. Calcio, fósforo, magnesio y flúor. Metabolismo óseo y su regulación 897
Francisca Pérez Llamas, Marta Garaulet Aza, Ángel Gil Hernández, Salvador Zamora Navarro

1.28. Hierro 927
Antonio Muñoz Hoyos, Antonio Molina Carballo

1.29. Cobre y zinc en nutrición humana 973
Manuel Olivares Grohnert, Carlos Castillo Durán, Miguel Arredondo Olguín, Ricardo Uauy Dagach-Imbarack

1.30. Selenio, manganeso, cromo, molibdeno, yodo y otros oligoelementos minoritarios 997
Miguel Navarro Alarcón, Fernando Gil Hernández, Ángel Gil Hernández

1.31. Nutrigenómica. Regulación de la expresión génica mediada por nutrientes y otros componentes alimentarios 1037
Ángel Gil Hernández, Óscar Constantino Chagoyán Thompson

1.32. Proliferación y muerte celular 1079
Alberto Manuel Vargas Morales

1.33. Regulación del crecimiento, diferenciación y desarrollo 1119
Manuel Hernández Rodríguez, Jesús Argente Oliver

1.34. Bases biológicas del envejecimiento 1155
José Luis Quiles Morales, Julio José Ochoa Herrera

1.35. Sistema inmune y mecanismos de inmunidad innata y adaptativa 1191
Alfonso Ruiz-Bravo López, María Jiménez Valera

1.36. Sistema inmunológico intestinal: nutrición e inmunidad 1229
Ricardo Rueda Cabrera

Glosario de términos 1261

Índice de términos 1283

1.1. Introducción a la historia de la Nutrición

Gregorio Varela Mosquera ■ Gregorio Varela Moreiras

Capítulo 1.1.

Introducción a la historia de la Nutrición

1. Introducción

2. ¿Cómo ha evolucionado la Nutrición?

2.1. El nacimiento de la Nutrición

2.2. El conocimiento científico de la nutrición

2.3. ¿Sirven todos los alimentos para una misma función?

2.4. El descubrimiento de las vitaminas

3. El interés creciente por la relación dieta-salud

3.1. Factores de riesgo dietéticos y nutricionales de las enfermedades degenerativas

3.2. Influencia de la dieta sobre los niveles de colesterol

3.3. Situación actual de la hipótesis lipídica de la ateroesclerosis

3.4. Dieta y cáncer

4. Resumen

5. Bibliografía

6. Enlaces web

Objetivos

- Conocer la relación existente entre alimentos y salud/enfermedad en la Antigüedad.
- Establecer cuándo se produce el conocimiento científico de la nutrición.
- Estudiar las diferentes etapas en dicho conocimiento científico.
- Comprender el concepto energético de la nutrición.
- Conocer los principales hitos en el descubrimiento de las necesidades nutricionales de los materiales plásticos.
- Describir brevemente el descubrimiento de las vitaminas.
- Conocer los descubrimientos científicos que han establecido la relación dieta-salud en la era moderna.
- Comprender el ejemplo de la hipótesis lipídica de la arteriosclerosis.
- Conocer los hitos que han conducido a la compleja relación dieta-cáncer

1. Introducción

Los alimentos no son simplemente el combustible fisiológico. La alimentación es también un fenómeno social. Así, los grandes acontecimientos se celebran con banquetes y, en el otro extremo, se guarda ayuno en la penitencia. En todas las sociedades, y con independencia del área geográfica, nuestro calendario está marcado con comidas festivas: el pavo en Navidad, los buñuelos en la fiesta de Todos los Santos, las torrijas en Semana Santa, etc.

La nutrición se ha convertido, para bien y para mal, en un tema tópico de conversación sobre el que cualquier persona opina, tanto o más que como lo haría sobre las armas nucleares, el medio ambiente, o los impuestos. En este sentido, el tema de la nutrición es único, ya que las opiniones de cada persona pueden guiarse simplemente por la experiencia individual; más aún, un habitante de Europa o de América del Norte no puede escapar de la amenaza de la guerra nuclear, del deterioro del medio ambiente, ni de los impuestos, pero va a poder modificar su dieta sin pedir permiso a nadie, ya sea tras una decisión basada en profundos conocimientos sobre nutrición, o ya sea -como en muchas ocasiones ocurre en los países occidentales- por propio capricho. Precisamente, son estos caprichos, los conceptos erróneos, el desconocimiento, en definitiva, por parte de la persona media sobre dieta y salud lo que está ocasionando una creciente expansión de personas que hablan sobre nutrición, desde expertos hasta auténticos charlatanes.

Las controversias sobre nutrición no son nuevas, y ya los filósofos griegos asociaban los cuatro elementos del cosmos (aire, agua, fuego y tierra) a los cuatro humores orgánicos: sangre, bilis amarilla, bilis negra y flema. Las opiniones de los filósofos griegos fueron adoptadas por la Escuela de Medicina de Salerno en Italia, ejerciendo un papel muy importante en los temas de medicina desde el siglo XI hasta el siglo XV. Sin embargo, la primera evidencia experimental que permitió relacionar la dieta y las enfermedades fue la relación encontrada entre el escorbuto que presentaban los marinos embarcados y la escasez de frutas y verduras frescas en su dieta. En los siguientes siglos, se utilizó la experimentación científica para comprender la digestión, la salivación, la respiración, la absorción, el metabolismo, en definitiva, para llegar a conocer las necesidades biológicas de determinados nutrientes. Téngase en cuenta que estas cuestiones, y por supuesto no en su totalidad, se han empezado a resolver en el siglo XX, lo que da idea del carácter joven de esta ciencia.

Dada la naturaleza científica que actualmente tienen las investigaciones sobre nutrición, uno podría sorprenderse por la gran cantidad y variedad de controversias relacionadas que existen al respecto. Así, no es de extrañar que los medios de comunicación se hagan eco regularmente del peligro potencial que supone consumir un exceso de grasa o colesterol, realizar poco ejercicio y actividad física,

los aditivos alimentarios, o las ventajas posibles de la suplementación con vitaminas. Todo lo anterior tiene como consecuencia el que la persona media se encuentre desconcertada y escéptica ante tanta y tan controvertida información. Debe quedar claro, por otra parte, que no es la ciencia la culpable de esta situación, sino que se debe a que generalmente lo que rodea a la nutrición es un buen negocio.

Europa es un continente que presenta grandes diferencias en cuanto a dietas y prácticas culinarias. También se pueden detectar importantes variaciones en los patrones de morbilidad y mortalidad, a los cuales se recurre frecuentemente en nuestro continente para llevar a cabo estudios sobre nutrición. El papel de la nutrición humana en la salud pública constituye actualmente una de las grandes áreas de la investigación y la política sanitaria en los países desarrollados, y es previsible que así continúe en las próximas décadas.

Los patrones de enfermedad en Europa están cambiando, y las estadísticas así lo confirman. Los patrones dietéticos también se están modificando, al igual que lo han hecho, o lo hacen, otros aspectos de los estilos de vida. Como ejemplo, baste decir que la gente puede ahora comer a diario alimentos que nuestros antepasados comían sólo con motivo de fiestas. Y, como ya entonces se decía, demasiadas fiestas no son buenas para la salud.

La nueva situación alimentaria en Europa, donde prácticamente existe suficiente comida para todos, donde el hambre y la desnutrición manifiesta se reducen a grupos muy marginales y específicos de la población, y donde la sobreproducción resulta, precisamente, el gran problema, se presenta con nuevos retos, de entre los que la creciente preocupación por la relación dieta-salud constituye el más importante. De hecho, hoy en día, en Europa preocupa el problema de la producción de alimentos no en cuanto a la cantidad, sino en cuanto a la calidad. Hay conciencia a todos los niveles, en la actualidad, de que la planificación del abastecimiento alimentario debe incluir no sólo aspectos de economía y política agro-ganadera y transformación alimentaria, sino también aspectos relativos a la salud. En pocas palabras, se trata ahora de hacer políticas de nutrición más que meras políticas alimentarias. Esto supone, sin lugar a dudas, un gran reto para el mundo de la nutrición, en cuanto que debe aumentar su capacidad para transmitir los conocimientos sobre el efecto de los nutrientes en la salud a aquellas personas que producen y transforman los alimentos.

Para comprender los cambios sanitarios que se están produciendo en Europa, hay que considerar los cambios en los estilos de vida de sus habitantes y, muy especialmente, de sus hábitos alimentarios. La nutrición en Europa se mueve alrededor de tres escenarios distintos: la Europa del Norte, con perfiles nutricionales poco saludables en el pasado, pero que en algunos países se están modificando actualmente gracias a políticas adecuadas; la Europa del Este, con unos hábitos alimentarios y unos indicadores sanitarios que empeoran día a día, como consecuencia de unos cambios socioeconómicos muy agudos y de políticas sanitarias pasadas erróneas; y, por último, la Europa Mediterránea, que se debate entre conservar su positiva alimentación tradicional y adoptar patrones dietéticos foráneos, precisamente aquellos que los propios países anglosajones están tratando de corregir.

2. ¿Cómo ha evolucionado la Nutrición?

2.1. El nacimiento de la Nutrición

De acuerdo con la teoría de Oparin-Haldane, las primeras células se formarían a partir de los materiales existentes en el llamado "caldo caliente", correspondientes a los materiales estructurales que constituyen actualmente la base plástica de la sustancia viva. Estas primeras células, a su vez, debieron de tomar para su desarrollo los elementos a partir de los cuales se formaron. Estos elementos serían los primeros nutrientes, apareciendo la primera manifestación de la Nutrición. Sin embargo, a medida que las células, cada vez en mayor número, fueron absorbiendo y utilizando estos nutrientes, el ritmo de utilización global de los mismos llegaría a ser mayor que el de su nueva formación a partir de los elementos anteriores, más sencillos (metano, amoniaco, etc.), produciéndose un agotamiento progresivo de nutrientes. Lo anterior iba a significar, por primera vez, una escasez de nutrientes en la historia evolutiva, exigiendo una solución adaptativa, que vendría dada por la aparición de un sistema diferente de producción de nutrientes: el autotrofismo. Los seres vivos que protagonizaron este sistema (vegetales)

forman nuevos nutrientes a partir de CO_2 y H_2O mediante la fotosíntesis. Sin embargo, el autotrofismo, como solución definitiva, tardó en implantarse, por lo que fue apareciendo, mientras tanto, el heterotrofismo, que no trata de formar nuevos nutrientes, sino que los toma de otros seres vivos. De las diferentes modalidades de heterotrofismo, interesa, de manera especial, el holotrofismo, que consiste en ingerir a otros seres vivos para obtener de los mismos la energía y los nutrientes necesarios. De esta manera, surge la necesidad de una serie de mecanismos adaptativos necesarios para desprender los nutrientes de los grandes edificios estructurales en los que están contenidos, apareciendo la digestión como función necesaria. Este cambio, realmente revolucionario, de la nutrición a la alimentación sugiere dos consideraciones: la primera es que lo ocurrido hace miles de millones de años sigue, en líneas generales, vigentes en la actualidad; la segunda consideración es consecuencia de esta adaptación: un animal tiene el tipo de sistema digestivo que necesita para la clase de dieta a la que está habituado. Esta adaptación digestiva a la dieta se puede poner de manifiesto desde varias perspectivas:

a) Filogenética: los herbívoros, por ejemplo, tienen un aparato digestivo más complejo que los carnívoros, que consumen una dieta que requiere una digestión menos laboriosa.

b) Ontogenética: el aparato digestivo del rumiante al nacer funciona como si fuera monogástrico, y solamente cuando comienza a ingerir alimentos voluminosos y ricos en fibra se hace realmente rumiante.

c) Experimental: si se alimentan durante sucesivas generaciones dos grupos de animales omnívoros, uno con dieta vegetal y otro, con dieta fundamentalmente concentrada y proteica, se observa que los que consumieron la dieta voluminosa y rica en celulosa tienen un aparato digestivo más complejo y desarrollado que los que consumieron la dieta concentrada.

2.2. El conocimiento científico de la nutrición

La nutrición continúa siendo una ciencia joven, ya que apenas ha superado los 200 años de existencia. La justificación principal para este retraso en el conocimiento científico se debe a que hoy se sabe que la Nutrición es, sobre todo, un conjunto de procesos químicos, y no pudo ser estudiada hasta que la Química no se había desarrollado, punto clave para estudiar la nutrición desde el punto de vista científico. Lo anterior no quiere decir que nuestros antepasados a lo largo de más de 2.000.000 de años no hayan tenido ideas ni planteado hipótesis acerca de los alimentos.

Los conceptos fundamentales en los que se ha basado la ciencia de la Nutrición comienzan con la Medicina, al preocuparse inicialmente por la relación entre alimentación y salud. El gran **Hipócrates** ya afirmaba: "El cuerpo humano contiene cuatro componentes. Éstos son los que completan su constitución y los que causan sus sufrimientos y su salud. La salud es primariamente aquel estado en el cual estas sustancias constituyentes se encuentran en proporción correcta y bien mezclada". Los componentes corporales hipocráticos eran la sangre, la flema, bilis amarilla y la bilis negra, y tienen poca relación con los componentes que hoy se consideran fundamentales: agua, proteínas, grasas y componentes inorgánicos. Estas ideas hipocráticas perduraron hasta bien entrada la Edad Moderna. Piénsese que en toda la Edad Media sólo aparece un libro relacionado con la nutrición: *Régimen Sanitatis* de **Salerno**, de Italia, y que, por otra parte, prácticamente no hace aportaciones nuevas a las ideas hipocráticas, salvo algunas novedades propias de la Medicina árabe y de la judía.

El primer intento real de estudio científico en nutrición se debe a **Sanctorio** (*Aforismos de Medicina Estática*), quien reparó que en el curso de la vida de una persona el peso corporal -a pesar de haber comido toneladas de alimentos- permanece relativamente constante a lo largo de su vida. Se interesó por lo que pasa con lo que se come, e hizo una serie de experimentos, en los que medía de forma muy cuidadosa lo que comía, bebía y excretaba. Para ello, construyó una balanza romana que colgó del techo de su casa, en la que se sentaba y esperaba a ir perdiendo peso poco a poco, en un proceso que denominó "perspiración insensible", que se debía a la evaporación del agua en la superficie de la piel y en las superficies respiratorias. De todos modos, desconocía que esta diferencia de peso se debía, en parte, al anhídrido carbónico producido y al oxígeno consumido. Después de Sanctorio, no es hasta finales del siglo XVIII cuando **Lavoisier** comienza a estudiar los fenómenos de

la combustión, las oxidaciones en general, y observa que la respiración es un proceso comparable al de la combustión, "la respiración es una combustión", y que se ha reconocido como un momento clave en la historia de la Nutrición. Igualmente interesante resulta la aportación posterior de Lavoisier y **Seguin**: "la respiración no es más que una combustión lenta de carbono y de hidrógeno, similar a la que ocurre con una lámpara o vela encendida. Y desde este punto de vista, los animales que respiran son verdaderamente cuerpos combustibles que se queman y consumen a sí mismos. En la respiración, como en la combustión, es la sustancia corporal la que suministra el calor, y el aire el que suministra el oxígeno: si el animal no repone constantemente las pérdidas respiratorias, la lámpara pronto se queda sin aceite y el animal muere, del mismo modo que la lámpara se apaga cuando le falta combustible". En esta misma línea, más tarde también Lavoisier, con la ayuda de **Laplace**, construye un calorímetro de hielo, que le permitió avanzar en el conocimiento de las oxidaciones que aparecen en el aire espirado.

A Lavoisier y Seguin se deben dos descubrimiento fundamentales: el consumo de oxígeno de una persona aumenta durante el trabajo muscular y después de la ingestión de comida. Así, escribe Lavoisier las siguientes bellísimas ideas: "el hombre que trabaja se quema más rápidamente, necesita más alimentos para reponer la sustancia; pero el alimento cuesta dinero. En tanto se considera la respiración simplemente como consumo de aire, la situación del rico y del pobre parece ser la misma: el aire está a disposición de todos y no cuesta dinero. Pero se sabe actualmente que la respiración es, de hecho, un proceso de combustión y que, en cada instante, parte de la sustancia del individuo es consumida, y el consumo aumenta de la misma manera que se aceleran el pulso y el movimiento respiratorio. El consumo de sustancia corporal aumenta, pues, con la actividad de la vida del individuo. Toda una serie de cuestiones morales surge de estas observaciones que son en sí mismas de naturaleza material. ¿Por qué ocurre desgraciadamente que un pobre que vive del trabajo manual, que está obligado a desarrollar el esfuerzo máximo de que es capaz, se ve obligado a consumir más sustancia que el rico, quien tiene menos necesidad de repararla? ¿Por qué, en horrible contraste, disfruta el rico de abundancia que no le es físicamente necesaria y que sería más adecuada para el trabajador?". Lo anterior, escrito en 1789, fue el detonante para que, cuatro años más tarde, Lavoisier fuera guillotinado.

El estudio científico de la nutrición se traslada principalmente a Francia, en la figura de **Von Liebig** y su obra ya clásica *La química orgánica en sus aplicaciones a la fisiología y la patología*:

- El carbono y el hidrógeno que se oxidan en el organismo durante el proceso respiratorio son los contenidos en los tres componentes orgánicos fundamentales de la materia viva, es decir, los llamados principios inmediatos: hidratos de carbono, grasas y proteínas.
- Las oxidaciones tienen lugar en todo el organismo, en todas las células, y no sólo en el pulmón, como postulaba Lavoisier.
- Los alimentos se clasifican en dos grupos: los llamados alimentos respiratorios, cuyo papel es el de ser combustibles y suministrar energía, y los llamados alimentos plásticos, aquellos cuya función es no sólo ser combustible, sino formar parte de las estructuras corporales.

Por su parte, **Voit**, discípulo de Liebig, realiza dos contribuciones importantes al conocimiento de la Nutrición:

1. La demostración de que una persona o un animal en ayunas oxida fundamentalmente grasas y proteínas, con una precisión casi perfecta, de acuerdo con los conocimientos actuales.

2. Gracias a **Rubner**, miembro del equipo de Voit, se calcula igualmente la cantidad de grasas y proteínas oxidadas. Mide el consumo de oxígeno, y en perros, la cantidad de calor emitida dentro de un calorímetro, demostrando que la cantidad de calor se corresponde exactamente con el calor de combustión de las grasas y proteínas oxidadas menos el calor de combustión de los productos nitrogenados de la orina. En definitiva, supone, y esto es lo importante, que los cambios en la conservación de energía se verifican por el **principio de conservación de la energía**. Se establecen las bases del llamado **concepto energético de la nutrición**, incluso antes del conocimiento de los mecanismos de las reacciones y las reacciones intermedias.

Posteriormente, el concepto energético de la nutrición es demostrado en humanos gracias al norteamericano **Atwater**, que lo hace tanto en situación de reposo como en trabajo muscular. Lo cierto es que, desde entonces, prácticamente no ha sido necesario modificar el concepto energético de la nutrición.

2.3. ¿Sirven todos los alimentos para una misma función?

Liebig ya hablaba de alimentos plásticos o "materiales de construcción", clasificándolos en dos categorías: las proteínas y los minerales. En el caso de las primeras, en parte, también sirven como combustible y se puede derivar energía de la oxidación de las proteínas corporales. Sin embargo, el papel más importante es el de servir para la edificación y construcción de la materia viva. ¿Cómo se desarrolla el conocimiento del papel de las proteínas en nutrición? En primer lugar, hay que recordar que el nombre de proteína no se introduce hasta el año 1838 por **Berzelius**, "la sustancia primaria fundamental de la materia viva". Anteriormente, a las proteínas se las denominaba **compuestos nitrogenados**.

En el estudio de las proteínas, una figura clave fue el francés **Berthollet**, quien descubrió que, si un animal se trata con ácido nítrico, se desprendía un gas que era el nitrógeno. De lo anterior se extrae la siguiente pregunta: ¿de dónde viene el nitrógeno que hay en los tejidos animales? Si el aire está compuesto en un 80% por nitrógeno, se puede emplear en fabricar proteínas en el organismo? Va a ser **Magendie** el que aborde fundamentalmente el origen del nitrógeno en los tejidos. Realiza experimentos con perros, a los cuales nutre con alimentos que no contienen nitrógeno, y así los alimenta con azúcar o goma, o con grasas. El resultado es que los animales se mueren. Pero, además, estas muertes vienen acompañadas de unas manifestaciones oculares que hoy se sabe que se deben a la deficiencia en vitamina A. Estas alteraciones se daban no sólo en los animales alimentados con azúcar, sino también en los alimentados con mantequilla (rica en vitamina A, pero sin proteínas). En Francia en aquellos momentos, con escasez grave de alimentos, se logra obtener gelatina a partir de huesos y desperdicios cárnicos. Se crea una comisión presidida por Magendie para evaluar la bondad o no de la gelatina como alimento. Se encuentra que ésta, con un 16% de nitrógeno, no asegura la vida de los animales. Por el contrario, los animales alimentados con carne logran vivir bien. Se esboza ya, por tanto, el concepto fundamental del diferente valor nutritivo de las proteínas, aunque contengan todas la misma cantidad de nitrógeno. Esta cuestión no empieza a definirse hasta 1820, cuando el francés **Braconot** comenzó a aislar los primeros aminoácidos, lo que dio lugar a la llamada Teoría Peptídica de las proteínas, desarrollada fundamentalmente por Emil **Fischer** en Alemania. Se dan por aquel entonces, 1905-1910, una serie de estudios que analizan las diferentes proteínas, y aparece la división de los aminoácidos en dos categorías: los que el organismo no puede formar por vía ninguna y los llamados indispensables o esenciales. En definitiva, es el momento en el que el papel nutritivo de las proteínas va a estar asociado a su contenido en aminoácidos esenciales. Replantea otro problema: si los aminoácidos son la parte componente de las proteínas y los responsables de su valor alimenticio, una proteína digerida debe tener el mismo valor nutritivo que una proteína tal como está en el alimento, sin digerir. Ello origina numerosos estudios en los que se comparan digeridos de proteínas y su valor nutritivo; cuando éstos han sido hechos enzimáticamente, la mezcla de aminoácidos tiene el mismo valor nutritivo que la proteína original. Todo lo contrario ocurre cuando las proteínas han sido digeridas químicamente, bien sea por ácido clorhídrico o ácido sulfúrico. ¿A qué se debe todo ello?

Henriques demuestra en 1907 que la hidrólisis ácida de las proteínas destruye uno de estos aminoácidos esenciales, el llamado triptófano. Las cantidades necesarias de estos últimos se determinan por primera vez por los investigadores norteamericanos **Osborne y Mendel**, quienes administraban determinadas proteínas y, si no se mantenía el crecimiento, añadían distintos aminoácidos para ver si lograban crecer bien. En los años 20 del pasado siglo ya se conocía, por tanto, que son ocho los aminoácidos que el hombre adulto necesita, y que iban a ser las proteínas las encargadas de suministrarlos, pudiendo el organismo transformar unos en otros.

2.4. El descubrimiento de las vitaminas

A finales del siglo XIX se habían creído completar las bases de las necesidades nutritivas: se trataba, en primer lugar, de una cuestión de combustibles, fundamentalmente hidratos de carbono y grasas, además de proteínas como elementos estructurales prioritarios. Era, además, una cuestión de elementos minerales que se necesitan y no se pueden generar.

Es en el año 1880 cuando se plantea si se puede vivir con una dieta artificial que contenga todos los componentes de un alimento habitual como la leche. Resulta curioso recordar también que hasta entonces no se plantea si los elementos inorgánicos constituyentes de nuestro cuerpo (se hablaba de al menos 20 sustancias) eran o no necesarios para la nutrición de los animales. **Bunge** y sus discípulos alimentan ratones con una dieta desprovista de minerales, encontrándose que estos animales viven muy poco. Cuando los animales son alimentados con leche, logran vivir perfectamente, luego, debe haber algo en la leche y en los alimentos, en general desconocido hasta entonces, imprescindible para la alimentación. La prueba de la existencia de estas sustancias hoy llamadas vitaminas se da de manera prácticamente simultánea en Holanda gracias a **Pekelharing**, y en Inglaterra gracias a **Hopkins**, por lo que éste logró en 1912 el Premio Nobel.

El nombre erróneo se debió, sin embargo, al polaco Casimir **Funk** en 1922. Con el descubrimiento de las vitaminas, se abrió la página final, quizás también la más bella, de la historia de la Nutrición. En 1948 se descubre la última de las vitaminas conocidas actualmente, la vitamina B_{12}, y que completa un periodo muy fructífero en la historia de la Nutrición: en tan sólo 22 años se descubren las 13 vitaminas hoy conocidas.

Probablemente, junto con el desarrollo del concepto energético de la nutrición, la historia de las vitaminas ha supuesto la etapa más apasionante de la historia de la Nutrición. De hecho, a comienzos del siglo XX se produce un espectacular incremento en el número de investigadores en diferentes áreas de Nutrición, que se corresponde con la llamada "Era de las vitaminas".

Los experimentos realizados por **Lunin** en el laboratorio de **Bunge**, llevados a cabo en la Universidad de Dorpat (Estonia) y presentados en el año 1880, son considerados generalmente, aunque no de manera unánime, la primera indicación de la existencia de las vitaminas. Se produjeron diferentes aproximaciones en paralelo, entre las que cabe desatacar el seguimiento del trabajo de E.V. **McCollum**. Aunque pueda parecer anecdótico, resulta interesante destacar que McCollum conocía el idioma alemán, lo que le permitió consultar y estudiar cuidadosamente todo el trabajo llevado a cabo hasta entonces en Europa, a través de los 37 volúmenes de *Maly's Jahresbericht über die Fortschritte der Tier-Chemie* (1870-1907). Gracias a la exhaustividad de esta obra, McCollum pudo identificar hasta 13 casos en los que se relataba que los experimentos realizados en animales mantenidos con dietas purificadas fracasaban. El influyente profesor e investigador Von Bunge creyó que el principal problema se debía a la carencia en las dietas de hierro y fósforo, consecuencia de la pérdida de los mismos durante el proceso tecnológico de purificación, y no a la no presencia de elementos nutricionales adicionales.

Cornelius **Pekelharing**, quien había trabajado durante mucho tiempo como presidente de la Comisión para el Estudio del beri-beri, señaló que los ratones no deberían poder crecer con una dieta simple de caseína, albúmina de huevo, harina de arroz y minerales. Así, en un artículo publicado en 1905, afirmó rotundamente que los ratones eran deficientes en "algo" que estaba presente en el suero láctico, aunque no era capaz de identificar el "factor perdido". De hecho, su trabajo permaneció sin conocerse hasta que se tradujo al inglés 20 años más tarde. Casi de forma paralela, aunque algo más tarde, Gowland **Hopkins**, profesor de Bioquímica en la Universidad de Cambridge, expuso las mismas observaciones que Pekelharing. Muchos años más tarde, al recibir el Premio Nobel, señaló que sus descubrimientos se habían basado en estudios hechos en 1906-1907 pero, al igual que Pekelharing, había pensado que sus hipótesis no serían aceptadas hasta la identificación del factor necesario, desconocido entonces. En cualquier caso, sí se considera a Hopkins como el primero en asociar las deficiencias existentes en una dieta sintética purificada con las enfermedades en humanos.

• **Raquitismo y vitamina D.** En 1917, **McCollum** comienza a trabajar en la nueva *School of Public Health* de la Universidad John Hopkins, donde logra descubrir una nueva patología de origen nutricional, el raquitismo. Así, se publicó en 1908 que perros encerrados, alimentados con leche y harina de avena, desarrollaban raquitismo, mientras que, si estos perros realizaban actividad extramural, no desarrollaban dicha enfermedad. En experimentos posteriores, se concluye que la falta de ejercicio y de aire fresco eran factores determinantes en el desarrollo del raquitismo. Además, los ensayos propone que es más importante una carrera al aire libre que la ingesta de leche

entera. Por el contrario, Edward **Mellanby** en Inglaterra, alumno de Hopkins y, por tanto, familiarizado con la teoría de los "factores accesorios", publicó en 1921 que se podía inducir raquitismo a perros encerrados cuando se les limitaba la ingesta de leche a 200 ml/día. Y que se podía prevenir la patología suplementando con una variedad de alimentos como mantequilla o aceite de hígado de bacalao, manteniendo a los animales intramuros. Surge entonces una verdadera "batalla de escepticismo" entre el grupo escocés y el inglés, en relación con las observaciones de cada uno. La disputa llegó a mayores cuando Mellanby afirmó, en un congreso celebrado en Glasgow, que "la harina de avena tenía efectos raquíticos en sus perros". Tal afirmación se consideró como un insulto si se tiene en cuenta que la harina de avena era un alimento típico de Escocia. La controversia se resolvió pronto: la exposición de un niño a la luz solar se había convertido en un tratamiento tradicional para el raquitismo en los países del Norte de Europa, e igualmente en 1919 se había observado que el empleo de lámparas de rayos ultravioleta también resultaba efectivo. Conviene recordar también que en esta época, al final de la I Guerra Mundial, había escasez de alimentos en Centroeuropa, y se demuestra en el *Childrens' Hospital* de Viena (con numerosos casos de raquitismo) que la administración de aceite de hígado de bacalao o la irradiación con luz ultravioleta lograban curar la enfermedad. Por entonces, McCollum y sus colaboradores habían desarrollado un modelo experimental animal de inducción de raquitismo, con dietas muy desequilibradas en la relación calcio/fósforo. El siguiente descubrimiento digno de mención, de importancia extraordinaria, es el que hallaron **Steenbock** y **Blacken** en Wisconsin en 1924, al observar que posee efecto curativo no sólo el tratamiento de la rata raquítica con irradiación ultravioleta, sino también la alimentación con la dieta irradiada. Muchos grupos de investigación tratan entonces de identificar el factor que se lograba activar de esta manera. Se propone inicialmente su carácter "lipídico", posteriormente se habla de "fracción esterol" y después de ergosterol. Finalmente, en 1931 el material se logra cristalizar, y se le denomina "vitamina D".

• **Escorbuto.** Lo primero que sorprende al revisar la literatura es que, después del descubrimiento hecho en 1907 de que la cobaya representaba un buen modelo experimental para el escorbuto, hubo muy poco avance en esta área. **McCollum** se interesó al observar claramente que sus ratas no necesitaban antiescorbúticos para la supervivencia. Posteriormente, realizó experimentos con cobayas a las que administraba como dieta harina de avena y leche y se encontró que algunos animales vivían y otros morían. El conjunto de las observaciones le llevó a escribir: "debe excluirse de la lista de síndromes por deficiencia en la dieta el escorbuto". **Chick** y **Hume**, primeras mujeres investigadoras con independencia en la historia de las vitaminas, demostraron que la leche de vaca tenía una actividad antiescorbútica muy baja, y además la actividad se perdía cuando la leche se sometía a autoclave, reapareciendo el escorbuto. Las mismas investigadoras quieren ahora probar si el jugo de lima comercial tiene actividad antiescorbuto. Encontraron que el preparado comercial presentaba sólo un 10% del jugo de lima recién exprimido. El procesamiento industrial, incluida la esterilización, generaba estas pérdidas tan importantes en la actividad. Albert **Szent-Györgi** fue el primer investigador que intentó aislar la vitamina C en limones (tarea difícil por la inestabilidad), en 1928, aunque sólo circunstancialmente, pues no era éste su objetivo de investigación. A continuación, muy poco tiempo después, los químicos pudieron determinar su estructura molecular y sintetizarla, y determinar su actividad biológica.

• **Beri-beri y vitamina B.** McCollum y otros investigadores habían sido capaces de inducir signos de polineuritis en ratas alimentadas con dietas purificadas con una fuente de vitamina A, habiéndose caracterizado el "factor antiberi-beri" como vitamina B. Se descubre entonces que la levadura sometida a autoclave, aunque perdía en buena medida su actividad "antineuritis", todavía era capaz de promover el crecimiento en ratas, lo que llevaba a deducir que debía haber un segundo factor: se les denomina entonces B_1 y B_2, respectivamente.

El aislamiento del factor B_1 se logró en 1926 por investigadores holandeses que trabajaban en Java, a partir de cristales obtenidos de cascarilla de arroz blanco. Los investigadores **Williams** y **Cline** denominaron a esta sustancia "tiamina" o vitamina que contiene azufre (*thios*, en griego).

• **Pelagra y vitaminas.** En primer lugar, hay que recordar que la pelagra es una patología caracterizada por dermatitis, problemas gastrointestinales e incapacidad mental. Joseph **Goldberger**

desarrolló un Plan de Acción contra la Pelagra en 1914. En primer lugar, observó que los médicos o enfermeras que estaban tratando a los pacientes no desarrollaban la enfermedad, por lo que descartaba un origen infeccioso. Más aún, estaba dispuesto a poner en riesgo su propia vida para demostrarlo. Así, recibió inyecciones subcutáneas de sangre infectada, lo que produjo rápidamente en Goldberger erupciones cutáneas, e incluso llegó a consumir excretas. Goldberger pensaba que el origen del problema era una dieta desequilibrada y, por ello, persuadió a las autoridades de Mississippi para que le permitieran administrar a 12 prisioneros voluntarios una dieta experimental con capacidad de inducir la pelagra, durante 6 meses. Tras 5 meses, algunos prisioneros desarrollaron dermatitis, y Goldberger afirmó que se trataba de pelagra, aunque muchos de sus colegas dudaban de que los síntomas correspondieran a la enfermedad. Finalmente, en 1937 se descubrió que tanto el ácido nicotínico como la nicotinamida poseían un gran potencial de curación del síndrome de la "lengua negra". Se denomina a esta vitamina niacina. Dando un salto en el tiempo, alrededor de 1945 se logró desarrollar nuevos métodos de análisis para la niacina. Se observa, además, que las ratas desarrollaban una deficiencia en niacina cuando una dieta purificada se diluía con un 40% de harina de maíz. Sin embargo, el crecimiento se recuperaba cuando se suplementaba la dieta con un 0,05% del aminoácido triptófano. En los inicios, se pensaba que el triptófano adicional podría estimular la síntesis microbiana de niacina en el intestino delgado, aunque más tarde, gracias al empleo de isótopos estables, se pudo comprobar que había una ruta enzimática específica para la conversión del triptófano en niacina.

• **Ácido fólico.** El camino hacia el descubrimiento de esta vitamina comenzó en la India. Lucy **Wills** se trasladó a dicho país para investigar un tipo de anemia, macrocítica, que padecían frecuentemente las mujeres Mohammedan. Después de comprobar que esta condición anémica no se debía a una infección, o a deficiencias en vitaminas A o C, descubrió que la levadura, y más en concreto el extracto "Marmita", eran muy eficaces en la curación de la enfermedad. De vuelta a Inglaterra, Wills *et al.* publicaron en 1937 que cuando se alimentaban monos con la típica "dieta Bombay" se inducía anemia macrocítica y leucopenia, respondiendo positivamente al tratamiento con levadura y con "Marmita". Se confirmaba que la patología que presentaban los monos no se debía a ninguna deficiencia vitamínica de las conocidas, y al nuevo factor se le denominó inicialmente "vitamina M" (de mono). De forma paralela, investigadores interesados en la nutrición animal encontraron que pollos alimentados con dietas que contenían las vitaminas conocidas crecían despacio y desarrollaban anemia macrocítica. En 1944 se revela que la anemia en los animales puede prevenirse administrando un factor de crecimiento para algunas bacterias, "vitamina Bc". Y al mismo tiempo, se había aislado el mismo compuesto a partir de espinacas, recibiendo el nombre de "ácido fólico" (del latín *folium*, hoja). Posteriormente, se descubrió que otras bacterias eran capaces, igualmente, de sintetizar el factor. En 1946 se identifica la estructura química por parte de Robert **Stokstad** *et al.*, en los Laboratorios Lederle (EE UU). Se describe su nomenclatura, y sus diferentes formas. Durante la primera mitad del pasado siglo los investigadores se ocuparon de la identificación y síntesis de las formas de la vitamina para el tratamiento de la deficiencia y anemia, mientras que la segunda mitad ha estado orientada a la nueva investigación en relación con la absorción y el metabolismo y sus nuevas funciones frente al cáncer, las enfermedades cardiovasculares y defectos de nacimiento.

• **Vitamina B_{12}.** En 1948 un grupo de investigadores pertenecientes a los Laboratorios Merck en Nueva York anunciaron que habían logrado aislar con éxito el "factor presente en hígado". Ellos llamaron a los cristales aislados "vitamina B_{12}". Otro grupo de investigación, esta vez en Inglaterra, logró un formidable descubrimiento: el color rosa de los extractos aislados se debía a la presencia de cobalto, denominándose entonces la vitamina como "cobalamina". Se descubrió , además, que era extraordinariamente activa en muy pequeñas cantidades. Los ensayos microbiológicos mostraron que los alimentos de origen vegetal no podían sintetizar la vitamina, únicamente ciertos microorganismos. Esto constituyó una auténtica revolución: hasta entonces no se contempló que los microorganismos pudieran aportar "algo" a los dos grandes reinos existentes en la Tierra, el animal y vegetal. Era la primera vez, por tanto, que se demuestra que los animales necesitan lo que solamente pueden conseguir a través de la síntesis microbiana. Al analizar cómo dos moléculas tan diferentes como

el folato y la vitamina B_{12} pueden revertir la anemia perniciosa, se observa que sólo la cobalamina logra detener el deterioro progresivo neurológico descrito en pacientes con anemia perniciosa y vegetarianos estrictos. Estudios posteriores, en relación con la función bioquímica de las vitaminas, revelan que la cobalamina posee un papel esencial a la hora de permitir la transferencia del grupo metilo dentro del ciclo metionina/metilación, impidiendo que se acumule el factor de riesgo homocisteína, así como evitando una deficiencia funcional de ácido fólico.

• **Vitamina A y carotenos.** En Dinamarca, durante la I Guerra Mundial, periodo que se caracterizó, entre otras cosas, por una carencia de grasas alimentarias. Un estudio realizado en un grupo de niños de ese país fue crucial para entender el descubrimiento de lo que hoy se denomina vitamina A. Efectivamente, en un grupo de 16, fueron 8 los que desarrollaron xeroftalmia. La única diferencia en las dietas de ambos grupos fue que los que no presentaban la patología habían estado tomando leche entera durante los 6 meses previos al estudio. El pediatra Carl **Bloch**, que lideraba la investigación, comenzó a administrar al grupo afectado aceite de hígado de bacalao, con unos resultados muy positivos: se revertía el problema ocular en apenas 8 días de tratamiento y el crecimiento general se aceleraba. El problema que se presentaba entonces era la identificación de la vitamina, que aparecía en, al menos, dos formas distintas: una de color muy intenso, presente en las hojas y zanahorias, y la otra de color mucho más tenue, en la grasa animal. Se encontró que los cristales de β-caroteno obtenidos de la zanahoria presentaban una gran actividad. Por su parte, el factor menos coloreado fue mucho más difícil de obtener, aunque sí se comprobó que al dar caroteno a ratas deficientes en vitamina A se lograba recuperar el color. Por ello, se propuso que el caroteno funcionaría como el precursor de la vitamina, lo que se confirmó definitivamente cuando se logró aislar la vitamina en 1939 a partir de aceites de hígado de pescado, al mismo tiempo que se lograba identificar también su estructura. La síntesis química de la misma, sin embargo, resultó muy dificultosa, y cuando finalmente se logró, se le denominó retinol.

• **Vitaminas E y K.** En el año 1922 **Evans** y Katherine **Bishop**, que trabajaban en Berkeley, encontraron que una dieta purificada con suplementos vitamínicos permitía el crecimiento normal de ratas hembra, pero, sin embargo, impedía el desarrollo normal de la reproducción. La lechuga fue el primer alimento capaz de prevenir este problema, después del trigo y, aún más eficazmente, el aceite de germen de trigo. El factor activo encontrado se denominó "vitamina E", el cual se aisló en 1935 con el nombre de "tocoferol" (del griego *tocos*, alcohol estimulante del nacimiento). Corresponde al danés Henrik **Dam** en 1935 el mérito de demostrar que se trataba en realidad de una deficiencia en otra vitamina, a la que llamó "vitamina K", en reconocimiento de su papel esencial en la coagulación sanguínea (*koagulation*, en danés y alemán).

3. El interés creciente por la relación dieta-salud

Las diferencias en el suministro de alimentos, tanto pasadas como presentes, son interesantes, pero no se puede hacer una interpretación de su importancia para la nutrición hasta que los factores dietéticos más importantes implicados en el mantenimiento de la salud y prevención de la enfermedad sean conocidos. A mediados de los años 60 del siglo XX, comenzaron a aparecer evidencias que sugerían cómo enfermedades que normalmente no se asociaban a la desnutrición tenían también su origen en la misma. Esto resultó sobre todo evidente para la cardiopatía isquémica, que se ha ido progresivamente revelando cómo una importante causa de mortalidad en muchos países. La obesidad ha llegado a tener tal prevalencia que ha constituido un importante problema de salud pública. Los conceptos de nutrición empezaron a cambiar conforme se fueron realizando investigaciones sobre las bases fisiológicas y bioquímicas de enfermedades degenerativas crónicas, y poco a poco se ha revelado que la ingesta de nutrientes se podía relacionar con un determinado número de factores de riesgo, y con el desarrollo de procesos tan diversos como la cardiopatía isquémica, o el cáncer de colon.

En consecuencia, hoy en día, tanto los excesos nutricionales como las carencias son objeto digno de estudio. Además, surge un renovado interés por temas como la fibra, cuyo estudio primero históricamente coincidió con el regreso de

profesionales de la salud de África y Asia, donde los patrones dietéticos eran tan diferentes y donde muchas de las principales enfermedades europeas apenas tenían lugar.

En los últimos años se ha producido un resurgir de la investigación y los hallazgos, que, aunque aún incompletos, son lo suficientemente importantes para las autoridades sanitarias de numerosos países como para apelar a cambios en la dieta nacional. La evidencia disponible sobre la importancia de los factores nutricionales varía ampliamente, y en muy pocas ocasiones logran satisfacer plenamente a la comunidad científica. Sin embargo, tanto los indicios positivos como los negativos que se van desvelando, así como la trascendencia de los problemas médicos implicados, han hecho que se recomienden en muchos países cambios substanciales en la dieta, en un intento de evitar dichos problemas. A lo anterior hay que añadir el hecho, muy importante, del coste económico que suponen estos procesos crónicos/degenerativos para los sistemas sanitarios de los países occidentales. se trata, no hay que olvidar, de enfermedades latentes durante un periodo largo de la vida, lo que ocasiona que sea muy difícil interpretar los estudios, muchos de los cuales están realizados a corto plazo o en relación con un número de individuos limitado.

3.1. Factores de riesgo dietéticos y nutricionales de las enfermedades degenerativas

Existen notables diferencias en lo que a disponibilidad de alimentos se refiere entre las poblaciones de los países desarrollados y los denominados países en vías de desarrollo, lo que viene acompañado de una marcada diferencia en la prevalencia de las patologías en las poblaciones de estos últimos.

Así, las principales causas de enfermedad y muerte en los países en vías de desarrollo están directamente relacionadas con el consumo de dietas de insuficiente valor calórico y bajo contenido de nutrientes esenciales. Sin embargo, en los países desarrollados, las principales causas son las llamadas enfermedades degenerativas, cuyas características más importantes, entre otras, se pueden resumir de la siguiente manera:

1. Sus manifestaciones clínicas aparecen generalmente en la época media de la vida.

2. Presentan una etiología múltiple.

3. Su desarrollo está en relación con el consumo de dietas de elevado valor calórico y abundante contenido en alimentos de origen animal.

Por ello, actualmente tiene lugar el inicio de una nueva era en el estudio de la nutrición humana, y que parte del hecho de que la nutrición y la salud óptima están íntimamente relacionadas. Tal y como hoy en día queda ampliamente reconocido, la nutrición es algo más que el suministro de los componentes de la dieta. En este sentido, y como bien indican **Grande y Varela**, entre otros autores, es posible preparar dietas adecuadas con las más variadas mezclas de los alimentos disponibles, pero parece evidente que cuando estas dietas son consumidas en una cantidad superior a la que ese individuo necesita, o cuando contienen cantidades desproporcionadas de algunos de sus componentes, pueden tener un efecto desfavorable para la salud. Como consecuencia, y como fenómeno reciente, han aparecido numerosos estudios acerca del papel de la dieta en conjunto, o de alguno de sus componentes, en el desarrollo de las enfermedades degenerativas.

Al igual que en los países en desarrollo, en los países occidentales hasta hace poco tiempo las enfermedades conocidas eran agudas, fundamentalmente infecciosas, frente a las cuales se disponía de tratamientos farmacológicos suficientes. Sin embargo, y como consecuencia de los procesos de urbanización/industrialización, empiezan a aparecer las llamadas enfermedades degenerativas, cuya causa se inicia mucho antes de su presentación. Estas enfermedades continúan siendo el gran reto, ya que, aunque se han logrado importantes avances en el tratamiento y prevención, todavía continúan siendo motivo de preocupación. Por tanto, una dieta correcta, equilibrada o normal, será aquella que tenga en cuenta los dos objetivos citados, es decir, que aporte toda la energía y nutrientes necesarios para evitar las llamadas enfermedades carenciales y que, por otro lado, sea útil para tratar de prevenir alguna de estas patologías crónicas/degenerativas que nos amenazan en nuestras sociedades occidentales. No se debe olvidar, en cualquier caso, la perspectiva de que no existe una dieta panacea, y los consejos dietéticos deberán moverse dentro de esta realidad, esperanzadora pero todavía muy incompleta, en cuanto a la relación dieta-salud.

3.2. Influencia de la dieta sobre los niveles de colesterol

La hipótesis lipídica propuesta por **Grande Covián** postula que el efecto de la dieta sobre el desarrollo de la arteriosclerosis se debe a la influencia de la misma sobre los niveles de colesterol plasmáticos.

En este sentido, en los comienzos de los años 50 del siglo XX se produce un gran avance para comprender la relación entre la composición de la dieta y los niveles de colesterol: se trata del estudio publicado por **Keys, Anderson y Grande** en 1950, en el que se demuestra que la relación entre el contenido de grasa de la dieta y el nivel de colesterol se expresaba por una simple ecuación:

$$y = a + bx$$

Siendo **"y"** la cifra de colesterol total, **"a"** la ordenada en el origen, **"b"** la pendiente de la línea, y **"x"** el contenido de grasa de la dieta expresado en % del valor calórico total de la misma. Es importante, en este desarrollo de la hipótesis lipídica de la arteriosclerosis, el hecho de que también a comienzos de los años 50 del siglo XX comenzara a verse que no todas las grasas tienen el mismo efecto sobre los niveles de colesterol. Así, surge en 1957, tras varios estudios metabólicos en humanos con diferentes tipos de grasa, la ecuación de Keys, Anderson y Grande:

$$\Delta col = 2{,}7\ \Delta S - 1{,}3\ \Delta P$$

En la que **"Δcol"** representa el cambio en la concentración de colesterol al pasar de una dieta a otra de distinta composición, y **"ΔS"** y **"ΔP"** representan el cambio en el contenido de ácidos grasos saturados y poliinsaturados como porcentaje de la energía de la dieta. Como se puede apreciar, en la ecuación no figuran los ácidos grasos monoinsaturados, ya que el coeficiente que describe el efecto de los mismos resultó ser neutro, sin significación estadística.

Esta ecuación ha permitido, en numerosos estudios, demostrar que la calidad de la grasa de la dieta es fundamental al evaluar su influencia en la etiología y/o prevención de las enfermedades cardiovasculares (ECV).

Posteriormente, se trata de analizar el efecto de las grasas de la dieta sobre la distribución del colesterol plasmático, lo que ha llevado a considerar firmemente que la prevención de la arteriosclerosis y sus consecuencias está mediada en gran medida por la reducción de la fracción de colesterol transportada por la lipoproteína de baja densidad (LDL), sin reducir, o elevando, la fracción transportada por las lipoproteínas de alta densidad o HDL. En este sentido, hay que destacar también el estudio que llevó a cabo en Francia **Jacotot** en 1983, quien en monjes benedictinos alimentados en diferentes periodos con distintas grasas culinarias (soja, cacahuete, girasol, cambra y oliva) demostró que era precisamente el aceite de oliva el único con capacidad de elevar la fracción de colesterol transportada por HDL. Esta observación, así como otras realizadas en estudios posteriores, demuestra el beneficioso papel que las grasas monoinsaturadas en general, y el aceite de oliva en particular, poseen en cuanto a la prevención dietética de la arteriosclerosis (*ver Capítulo 4.19*).

3.3. Situación actual de la hipótesis lipídica de la ateroesclerosis

Tras repasar brevemente el crítico papel cuanti y cualitativo de las grasas de la dieta sobre el nivel de colesterol, en el año 1989 el grupo de **Steinberg** propone que la iniciación del proceso arteriosclerótico está relacionada con la presencia de productos de oxidación de los lípidos transportados por las LDL, es decir, se añade el papel de las vitaminas antioxidantes (carotenos, vitamina E y vitamina C), así como otros nutrientes antioxidantes a la teoría de la hipótesis lipídica de la arteriosclerosis. Siguiendo con el desarrollo cronológico, y entre otros muchos estudios, en 1993 aparecieron dos estudios de **Rimm** y de **Pryor**, realizados en un número amplio de sujetos, en los que se muestra que el consumo habitual de suplementos de vitamina E viene acompañado de una notable reducción del riesgo de padecer enfermedad coronaria, tanto en mujeres como en hombres. Sin embargo, los suplementos consumidos en estos estudios de intervención contenían cantidades muy elevadas de vitamina E. El propio **Steinberg** ha señalado que el efecto beneficioso de la vitamina E debe consi-

derarse no de manera individual, sino como una adición de factores bien conocidos de reducción del riesgo coronario (supresión del hábito de fumar, vigilancia del peso, reducción del consumo de ciertas grasas y colesterol, ejercicio habitual, etc.), y no como la solución o panacea a los problemas coronarios. A lo anterior hay que añadir que en el caso de la vitamina E se trata de un micronutriente liposoluble, con capacidad potencial de toxicidad, especialmente si se considera que las dosis vitamínicas empleadas en estos estudios de intervención quedan dentro del rango "farmacológico", alejándose del criterio nutricional para el que se han establecido las ingestas recomendadas. Por ello, la cautela debe ser el criterio a seguir, más aún si cabe en lo referente a suplementación vitamínica a largo plazo (décadas) para evitar los posibles procesos degenerativos asociados a estas vitaminas. Por último, no se debe olvidar en esta reflexión que los factores de riesgo "convencionales" o "tradicionales" para las ECV no logran explicar más allá de un 70% de su etiología, por lo que la búsqueda de nuevos factores que traten de explicar el 30% restante es uno de los temas clave de la investigación en Nutrición en la actualidad.

3.4. Dieta y cáncer

En las sociedades desarrolladas el cáncer constituye la segunda causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares, contabilizando en España prácticamente el 20% de las muertes. Sin embargo, existen grandes diferencias en cuanto a la incidencia de dicha enfermedad, según las distintas regiones de Europa, mayores incluso que las que se dan entre países subdesarrollados y desarrollados. Al no poder explicarse estas diferencias exclusivamente por motivos genéticos, resulta necesario tratar de explicarlas por causas medioambientales, entre las cuales la dieta juega un papel primordial. De hecho, se estima que aproximadamente un 40% de los diferentes tipos de cáncer pueden ser causados por factores dietéticos, de acuerdo con el ***National Institute of Health*** y el ***National Research Council*** de los EE UU.

Sin embargo, y aunque la relación dieta-cáncer sea probablemente una de las más estudiadas en los últimos años, los resultados son todavía muy poco concluyentes. Hay que recordar la compleja problemática que conlleva el estudio de los factores dietéticos. Como ejemplo, **Hill** ya señalaba en 1944 que, así como los cánceres asociados al consumo de tabaco podrían evitarse dejando de fumar, no existe la opción de dejar de comer. Además, la dieta *per se* es un sistema complejo, englobado en una lista de factores medioambientales, muchas veces convergentes, lo que incrementa la dificultad del estudio de la influencia aislada de cada uno de los factores. Finalmente, y como dato también importante, en muchos tumores que cursan a través de uno o más componentes etiológicos medioambientales, se produce normalmente un intervalo de varias décadas entre la primera exposición al carcinógeno y la aparición clínica del tumor. Por ello, van a ser las modificaciones dietéticas producidas en los años anteriores las que actúen en la incidencia actual.

De acuerdo con **Potter** y **Archer**, se pueden diferenciar cuatro posibles alteraciones dietéticas en relación con el cáncer: en primer lugar, los desequilibrios por exceso, la mayoría de las ocasiones en relación con la energía y la grasa; en segundo, las alteraciones en el aporte de macro y micronutrientes; en tercero, deficiencias nutricionales específicas, y en cuarto, la existencia de sustancias a las que el organismo está siempre expuesto y para las que no existe una respuesta metabólica adecuada.

En cualquier caso, hoy no se dispone de la información suficiente que permita explicar los mecanismos por los cuales la dieta puede influir sobre el desarrollo de los tumores malignos, aunque la evidencia disponible indica que ciertos componentes juegan un papel relevante como protectores frente al cáncer, mientras que otros pueden considerarse como factores de riesgo, e incluso como inductores de la carcinogénesis. Puede ser útil, y con todas las limitaciones que ello supone, agrupar los tumores asociados a la dieta y sus componentes en tres grupos:

a) Aquellos relacionados con la ingesta de grasa, entre los que están implicados algunos de los más frecuentes en los países occidentales, como el cáncer de mama, endometrio, ovario, y próstata.

b) Los relacionados con la ingesta de alcohol: cáncer de faringe, esófago, e hígado.

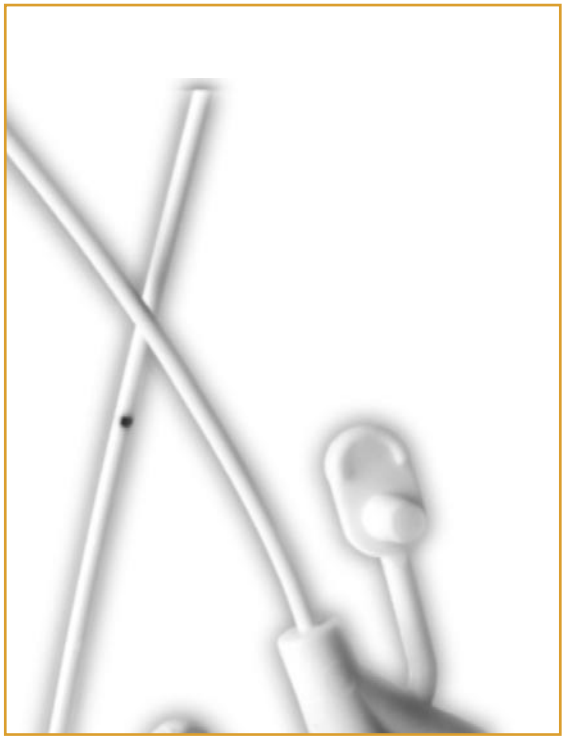
c) Los que se asocian a una inadecuada nutrición, como el de esófago y estómago.

4. Resumen

- El presente Capítulo pretende destacar los aspectos y acontecimientos más importantes que han permitido el desarrollo del conocimiento científico de la Nutrición, teniendo en cuenta que se trata todavía de una ciencia muy joven, de apenas 200 años. Sin embargo, en la Introducción se dan algunos ejemplos de cómo ya en la Antigüedad existía un interés, en muchas ocasiones empírico, por la relación entre los alimentos y el estado de salud. Ya desde aquellos tiempos, y hasta la actualidad, la Nutrición ha estado rodeada de una serie de mitos y falsas creencias que, en gran medida, han dificultado el conocimiento científico de esta materia. Se recuerda también la particularidad de esta ciencia en relación con el hecho de que se come por algo más que por mantener la salud, y esa percepción histórica ha sido, sin embargo, muy diferente para las poblaciones.

- La Nutrición no se podría haber desarrollado si no lo hubiera hecho la Química. Quizá la culminación de este hecho fuera el establecimiento del llamado concepto energético de la nutrición, debido a Lavoisier y a sus colaboradores y discípulos, como se pone de manifiesto en este Capítulo. Igualmente, se dedica un apartado importante al descubrimiento de la necesidad de materiales plásticos o de construcción, lo que hoy se denomina proteínas, y su diferente valor nutritivo, dependiendo del origen de las mismas. El Capítulo, a continuación, se sitúa a finales del siglo XIX/comienzos del siglo XX, cuando se pensaba que el mapa de la Nutrición estaba completo. Sin embargo, el surgimiento de devastadoras y mortales enfermedades carenciales da lugar a una auténtica revolución, que supone el descubrimiento de las hoy llamadas vitaminas, y su esencialidad en la dieta humana.

- Se finaliza con algunos ejemplos demostrativos de lo que supone el interés principal de la Nutrición desde 1950 hasta nuestros días, el papel de algunos nutrientes en la etiología y/o prevención de las denominadas enfermedades crónico-degenerativas, y más específicamente las enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer. Por ello, y como principal ejemplo histórico de esta última etapa de la Nutrición -aún no acabada-, se desarrolla la hipótesis lipídica de la arteriosclerosis.



5. Bibliografía

Bender AE. Dietas "mágicas" y otros errores. En: Grande Covián F, Varela G, Conning D (eds.). Reflexiones sobre Nutrición Humana. Fundación BBV. Bilbao, 1994: 357-89.
El autor reflexionaba ya en 1994 sobre el mundo muchas veces fraudulento que rodea a la Nutrición, con la paradoja de que probablemente sea la única ciencia en la que, a pesar del enorme avance que en el conocimiento científico se ha producido, existen más mitos y falacias que hace un siglo.

Brubacher GB. Preface. Diet and Health in Europe: the evidence. Ann Nutr Metab 1991; 35 (Suppl 1).
Supuso -y presenta todavía una gran actualidad- una magnífica reflexión acerca de la relación entre dieta.

Carpenter KJ. A Short History of Nutritional Science: Parts 1-4 (1786-1985). J Nutr 2003; 133: 638-45; 975-84; 3023-32; y 3331-42.
Serie de artículos muy recientes (2003) suponen la mejor muestra actualizada para conocer cómo ha evolucionado la historia de la Nutrición, desde el punto de vista del conocimiento científico, dividida en cuatro periodos: 1786-1785, 1885-1912, 1912-1944, y 1945-1985.

Grande Covián F. Desarrollo histórico del conocimiento científico de la nutrición. En: Fundación Príncipe de Asturias (eds.). La Nutrición y la Salud. Fundación Príncipe de Asturias. Oviedo, 1993; 13-50.
Magnífica, amena y original revisión de la evolución del conocimiento científico de la nutrición, y de lo que han supuesto los algo más de 200 años de esta ciencia. Se considera como el mejor texto en idioma españo que hace referencia a esta materia.

Grande Covián F. La hipótesis lipídica de la aterosclerosis. En: Fundación Príncipe de Asturias (eds.). La Nutrición y la Salud. Fundación Príncipe de Asturias. Oviedo, 1993; 71-86.

Grundy SM, Denke MA. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. J Lip Res 1990; 31: 1149.

Jacotot B. Effet de l'huile d'olive sur la lipidemie et le metabolisme des lipoproteines dans un cuvent de Benedictines. Report Final. Hôpital Henri Mondor. Creteil, 1983.

Keys A. Coronary Heart Disease: the global picture. Atherosclerosis 1975; 22: 149-60.

Keys A. Seven countries. A multivariate analysis of death and coronary hearth disease. Commonwealth Fund Book. Harvard University Press. Cambridge, 1980.

Pryor WA. The antioxidant nutrients and disease prevention-what do we know and what do we need to find out? Am J Clin Nutr 1993; 53: 391S-3S.

Steinberg D, Carew TE, Khoo JC, Wiztem JL. Beyond cholesterol: modifications of low-density lipoproteins that increase its atherogenicity. New Engl J Med 1989; 320: 915-9.

Steinberg D. Antioxidant vitamins and coronary heart disease. New Eng J Med 1993; 328: 1487-9.
Los artículos, capítulos y revisiones arriba referenciados analizan el mejor ejemplo, hasta el momento, en el conocimiento de la relación entre dieta y salud: las enfermedades cardiovasculares y el papel de los diferentes componentes de la dieta en la etiología y/o prevención de las mismas. Todo ello supuso el desarrollo de la llamada hipótesis lipídica de la arteriosclerosis.

Hill MJ, Caygill CPJ. Epidemiology of cancer in Europe: the national level. En: Hill MJ, Giacosa A, Caygill CPJ (eds.). Epidemiology of Diet and Cancer. Ellis Horwood Ltd. London, 1994.

National Research Council. Diet, Nutrition and Cancer. National Academy Press. Washington DC, 1982: 5-20.

Potter JD. Diet and cancer. En: Hill MJ, Giacosa A, Caygill CPJ (eds.). Epidemiology of Diet and Cancer. Ellis Horwood. London, 1994.

Varela G. Mediterranean Diet and Cancer. En: Benito E, Giacosa A, Hill MJ. Public Education on Diet and Cancer. Kluwer Academic Press. London, 1992; Chap. 15: 143-60.
Se analiza en esta serie de artículos cuál es el estado actual del conocimiento de la relación entre cáncer y dieta, desde el punto de vista epidemiológico, y de los estudios de intervención desarrollados.

Varela G. Dieta normal. En: Grande Covián F, Varela G. Aspectos de la Nutrición del Hombre. Fundación BBV. Bilbao, 1992: 103-28.

Varela G, Varela Moreiras, G. Historia y concepto de la Ciencia de la Nutrición. En: Tojo R (ed.). Tratado de Nutrición Pediátrica. Ediciones Doyma, 2001.
Una vez completado el "mapa de la nutrición", en la primera mitad del siglo XX, surge otra etapa de importancia crucial, en la que se pretende definir lo que se entiende por dieta equilibrada, saludable, ideal... y qué constituyentes y en qué proporción deben formar parte de la misma.

Walker AF. From the Composition of Foods using chemical analysis... to micronutrients and beyond. En: Ashwell M, Widdowson EM (eds.). A New Millenium of Nutrition Research. Br J Nutr 1997; 78: S73-S80.
Se describe de manera descriptiva y apasionante cómo evolucionó el conocimiento científico de la nutrición, lo que le debe ésta a la química en sus inicios y, más recientemente, al haberle permitido sintetizar químicamente los nutrientes, lo que ha dado lugar a los fenómenos de suplementación, pero también a la fortificación.

6. Enlaces web

- www.fao.org
- www.eufic.org
- www.arborcom.com
- www.eans.net
- www.nutrition.gov

1.2. Funciones y metabolismo de los nutrientes

Ángel Gil Hernández ■ Fermín Sánchez de Medina Contreras

Capítulo 1.2.

Funciones y metabolismo de los nutrientes

1. Introducción

2. Funciones de los nutrientes

2.1. Concepto de metabolismo

2.2. Los nutrientes como combustibles metabólicos

2.3. Los nutrientes como sillares estructurales

2.4. Nutrientes esenciales, no esenciales y semiesenciales

2.5. Funciones específicas de los nutrientes

- 2.5.1. Hidratos de carbono
- 2.5.2. Lípidos
- 2.5.3. Proteínas y otros componentes nitrogenados de los alimentos
- 2.5.4. Vitaminas y minerales

2.6. Equilibrio y balance de nutrientes

2.7. Recambio metabólico de los nutrientes

2.8. Flujo de los nutrientes a través de las vías metabólicas

2.9. *Pools* de nutrientes y de metabolitos

2.10. Adaptaciones metabólicas a la ingesta alterada de nutrientes

3. Metabolismo energético y metabolismo intermediario

3.1. Metabolismo energético

- 3.1.1. Compuestos "ricos en energía"
- 3.1.2. Fosforilación oxidativa
- 3.1.3. Fosforilación a nivel de sustrato
- 3.1.4. Almacenamiento de energía

3.2. Metabolismo intermediario

- 3.2.1. Fases del metabolismo intermediario
- 3.2.2. Ciclo tricarboxílico (ciclo de Krebs)
- 3.2.3. Papel de las vitaminas y los minerales en el metabolismo
- 3.2.4. Compartimentación celular
- 3.2.5. Compartimentación tisular

4. Resumen

5. Bibliografía

6. Enlaces web

Objetivos

- Conocer los conceptos de metabolismo, anabolismo y catabolismo.
- Identificar las funciones energéticas y estructurales de los macronutrientes y de los micronutrientes y conocer los conceptos de nutrientes esenciales, no esenciales y semiesenciales.
- Exponer el concepto de equilibrio y balance de nutrientes y de *turnover* de nutrientes y metabolitos.
- Describir en qué consiste el flujo de nutrientes a través de una vía metabólica.
- Comprender el concepto de *pool* de nutrientes y metabolitos, y describir los tipos de *pools* en el organismo.
- Conocer los conceptos de metabolismo energético y metabolismo intermediario.
- Conocer el concepto de compuestos ricos en energía y citar varios ejemplos.
- Hacer un esquema de la vía de la fosforilación oxidativa y de la fosforilación a nivel de sustrato.
- Identificar las principales fases del metabolismo intermediario y esquematizar las principales vías metabólicas implicadas.
- Comprender los conceptos de compartimentación celular y tisular.

1. Introducción

Los nutrientes contenidos en los alimentos, después de digeridos y absorbidos en el epitelio intestinal, entran en la circulación sanguínea y son distribuidos y utilizados en diferentes tejidos con fines de obtención de energía o como elementos estructurales o reguladores de las funciones biológicas. Los macronutrientes (hidratos de carbono, grasas y proteínas) son utilizados por los tejidos tanto con fines energéticos como estructurales.

El objeto de este Capítulo es el estudio de la utilización de los macronutrientes por los tejidos, denominado metabolismo. Este término describe la suma de procesos por los que una sustancia determinada es utilizada por el organismo, e incluye los cambios químicos que tienen lugar en las células, por los cuales se obtiene energía para los procesos vitales, las actividades y vías de obtención de nuevas biomoléculas necesarias para el crecimiento, desarrollo y diferenciación de los tejidos.

Los nutrientes son necesarios para la formación de compuestos estructurales y funcionales en todos los tejidos. Las proteínas, los fosfolípidos, el colesterol, los glicolípidos, los glicosaminoglicanos, los ácidos nucleicos y un número elevado de otras moléculas orgánicas de naturaleza nitrogenada son componentes importantes de las células y de los fluidos biológicos. La diferencia entre la ingesta de nutrientes y su utilización es lo que se denomina balance de nutrientes. Todos estos componentes químicos del organismo no se encuentran en un estado estático sino que son continuamente degradados, mediante reacciones catabólicas, y sintetizados de nuevo (*turnover*). Por otra parte, los nutrientes y los metabolitos se agrupan en conjuntos denominados *pools* tanto a nivel molecular como celular, tisular y del organismo en su conjunto.

Los procesos metabólicos implicados en la ruptura y oxidación de los macronutrientes hasta agua y dióxido de carbono, con liberación de energía, capturada en forma de equivalentes de reducción y de enlaces de elevada energía de hidrólisis en los denominados compuestos "ricos en energía", se denominan vías catabólicas. Los procesos metabólicos relacionados con la síntesis de macromoléculas tales como las proteínas, glucógeno, varios tipos de lípidos y de ácidos nucleicos se denominan vías anabólicas. Además, existen vías que conectan el catabolismo con el anabolismo, tales como determinadas etapas del ciclo del ácido cítrico, que tienen un carácter anfibólico. Este Capítulo ofrece una visión general de las vías catabólicas y anabólicas, así como de las vías de conexión entre ambas.

2. Funciones de los nutrientes

2.1. Concepto de metabolismo

Se conoce con el nombre de metabolismo a las transformaciones químicas que sufren los nutrientes en los tejidos, una vez superados los procesos de digestión y absorción correspondientes. Este metabolismo incluye reacciones de tipo degradativo, que se utilizan fundamentalmente para obtener energía (catabolismo), y reacciones de tipo biosintético, por las que se forman diversas biomoléculas utilizando parte de esa energía (anabolismo).

2.2. Los nutrientes como combustibles metabólicos

El cuerpo humano es una máquina que necesita disponer de "combustible" en forma de energía química. Esta energía es utilizada para el trabajo físico, para obtener calor y mantener así la temperatura corporal, para la construcción de sus propias estructuras, utilizando para ello numerosas reacciones biosintéticas, y para transportar un elevado número de sustancias a través de las membranas celulares. Un combustible metabólico puede definirse como un compuesto circulante que es tomado por los tejidos para la producción de energía. Existen dos tipos de combustibles para el organismo: exógenos, derivados de la ingesta de alimentos, y endógenos, derivados directamente de los almacenes tisulares (como el glucógeno y los triglicéridos) o de la oxidación incompleta de otros combustibles (como el lactato o los cuerpos cetónicos).

Las fuentes de combustible contenidas en los alimentos son los macronutrientes denominados hidratos de carbono, grasas y proteínas. Si estos compuestos se queman en una bomba calorimétrica dan lugar a la formación de dióxido de carbono (CO_2), agua y además, en el caso de las proteínas, óxidos de nitrógeno. Su combustión también libera calor. De la misma manera, su oxidación en el organismo humano libera CO_2, agua y urea, que contiene el nitrógeno derivado de las proteínas. Los macronutrientes pueden ser oxidados tan sólo parcialmente o ser convertidos en otras sustancias pero, esencialmente, o son oxidados completamente o son almacenados. No obstante, la oxidación incompleta de los nutrientes explica por qué el organismo humano libera al exterior en el sudor y en las excretas pequeñas cantidades de otras sustancias como lactato, cuerpos cetónicos (acetoacetato y β-hidroxibutirato), aminoácidos y otros productos de su metabolismo. Resulta muy útil en nutrición mantener esta visión global de utilización metabólica de los nutrientes **(Figura 1)**.

2.3. Los nutrientes como sillares estructurales

En realidad, los alimentos no sólo suministran energía utilizable por el organismo, sino que representan la fuente principal de sustancias de naturaleza estructural y proveen de biocatalizadores preformados, necesarios para numerosas reacciones tanto de degradación de los nutrientes ingeridos como de biosíntesis de otras sustancias. Así, las proteínas ingeridas con la dieta son la fuente fundamental de los aminoácidos para la construcción de las proteínas corporales propias. Por otra parte, los lípidos constituyentes de los alimentos no sólo proveen de energía sino que son la fuente de otros compuestos estructurales como los ácidos grasos esenciales y el colesterol, fundamentales para la estructura de las membranas celulares. De la misma forma, la glucosa derivada de los hidratos de carbono de la dieta no sólo se utiliza con fines energéticos, sino que se aprovecha para la formación de numerosas estructuras en la que están implicadas glicoproteínas y glicolípidos, así como intermediarios metabólicos, de gran importancia en el funcionamiento celular.

Por otra parte, varios elementos minerales contenidos en los alimentos, tales como Ca, P, Mg, son la fuente principal de nutrientes estructurales de naturaleza inorgánica implicados en el desarrollo y mantenimiento del tejido óseo, así como en la regulación de numerosas reacciones celulares en todos los tejidos.

Asimismo, los electrólitos Na, K y Cl, involucrados en el mantenimiento de la presión osmótica celular y necesarios en el organismo para el funcionamiento de todos los tejidos, se obtienen de los alimentos. Todos estos minerales ingeridos en la dieta en cantidades importantes también se consideran macronutrientes. Otros minerales como

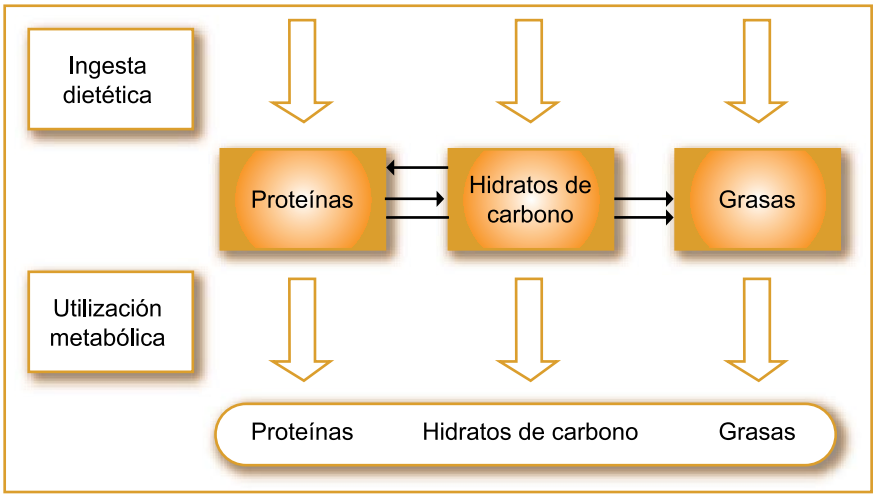


Figura 1. *Balance de macronutrientes.*

Fe, Zn, Cu, Mn, Se, Co, Cr, F e I, denominados oligoelementos, así como las vitaminas, se ingieren con los alimentos en pequeñas cantidades y se consideran micronutrientes. Los oligoelementos desempeñan una función eminentemente estructural para muchas proteínas del ser humano, o bien están implicados en la regulación de numerosas reacciones biológicas. Por lo que se refiere a las vitaminas, son sustancias de naturaleza orgánica contenidas en los alimentos que, una vez absorbidas y adecuadamente transformadas hasta sus formas activas en el interior del organismo humano, participan como biocatalizadores de numerosas reacciones metabólicas y, en algunos casos, modulan directamente la expresión de varios genes implicados en el crecimiento y diferenciación celular.

2.4. Nutrientes esenciales, no esenciales y semiesenciales

Las vías anabólicas del organismo humano no posibilitan la síntesis de toda la amplia gama de compuestos necesarios para el metabolismo celular normal, siendo preciso que una parte importante de ellos sea aportada por la dieta. Esto ocurre no solamente con las vitaminas, sino con un número considerable de aminoácidos y con ciertos ácidos grasos (*ver Capítulos 1.13 y 1.14*). Estos nutrientes se denominan esenciales, mientras que aquellos para los que el organismo posee la correspondiente vía biosintética son los nutrientes no esenciales.

El hecho de que el organismo pueda sintetizar los nutrientes no esenciales no excluye la recomendación de que sean aportados por la dieta. En algunos casos, estos nutrientes se forman a partir de otros que son esenciales (la tirosina de la fenilalanina, p. ej.). Y aunque esto no sea así, el funcionamiento de la vía biosintética correspondiente supone siempre un gasto energético suplementario. Así, por ejemplo, la glucosa, que es un nutriente no esencial, puede formarse en el organismo a partir de los aminoácidos, algunos de ellos esenciales, cuando no se aporta por la dieta. En el caso de la niacina, una vitamina, se puede formar a partir del triptófano, pero éste es un aminoácido esencial.

Se consideran compuestos semiesenciales o condicionalmente esenciales aquellos que pueden ser sintetizados en el organismo (incluyendo la aportación de la flora intestinal), pero en cantidades que pueden resultar insuficientes en determinados estados de requerimientos aumentados (crecimiento, embarazo, lactancia, senectud, etc.). Se pueden incluir aquí algunos aminoácidos y bases púricas, entre otros (*ver Capítulos 1.15 y 1.16*).

2.5. Funciones específicas de los nutrientes

2.5.1. Hidratos de carbono

Los hidratos de carbono son los componentes orgánicos más abundantes de la mayor parte de las frutas, verduras, legumbres y cereales, contribuyendo a la textura y sabor de estos alimentos. Representan la fuente de energía mayoritaria para el ser humano, son digeridos y absorbidos en el intestino delgado y, en menor medida, algunos de ellos son fermentados parcialmente en el intestino grueso (*ver Capítulo 1.8*).

La ingesta de energía debida a los hidratos de carbono representa el 40-60% de la energía to-

Tabla 1. PRINCIPALES COMBUSTIBLES METABÓLICOS UTILIZADOS POR DIFERENTES TEJIDOS

Tejido	Combustible	Combustible liberado
Cerebro	Glucosa Cuerpos cetónicos	Lactato (sólo en ayuno prolongado)
Corazón	Ácidos grasos libres Triglicéridos Glucosa Cuerpos cetónicos Lactato	
Eritrocitos	Glucosa	Lactato
Hígado	Glucosa Ácidos graso libres Glicerol Lactato Alcohol Aminoácidos (parcialmente)	Glucosa Lactato (fase absortiva) Triglicéridos Cuerpos cetónicos
Intestino delgado	Glucosa Glutamina	Glucosa Aminoácidos Lípidos
Músculo esquelético	Glucosa Ácidos grasos libres Triglicéridos Aminoácidos de cadena ramificada	Lactato Alanina Glutamina
Riñón	Glucosa Ácidos grasos libres Cuerpos cetónicos Lactato Glutamina	Glucosa (sólo en ayuno prolongado)
Tejido adiposo	Glucosa Triglicéridos	Lactato Glicerol Ácidos grasos libres

tal aportada por la dieta. Los hidratos de carbono, consumidos preferentemente en forma de disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, son absorbidos y transportados a los tejidos corporales como glucosa; ésta es el combustible metabólico primario para los humanos. Algunos tipos de células, como los eritrocitos, sólo son capaces de utilizar este combustible. La **Tabla 1** muestra una lista de los combustibles metabólicos utilizados por diferentes tejidos y los productos liberados.

La glucosa utilizada en los tejidos deriva de los almidones, sacarosa y lactosa de la dieta, de los depósitos corporales de glucógeno hepático y muscular, o de la síntesis hepática o renal, a partir de precursores gluconeogénicos tales como el esqueleto carbonado de algunos aminoácidos, del glicerol y del lactato; estas fuentes permiten el mantenimiento de la concentración de glucosa en sangre dentro de límites estrechos.

El equilibrio entre oxidación, biosíntesis y almacenamiento de glucosa depende del estado

hormonal y nutricional de la célula, el tejido y el organismo.

Las vías metabólicas predominantes de la glucosa varían en diferentes tipos celulares dependiendo de la demanda fisiológica. Así, el hígado desempeña un papel fundamental en la homeostasis corporal de la glucosa. En los hepatocitos, la glucosa puede ser oxidada completamente para obtener energía, ser almacenada en forma de glucógeno o proveer carbonos para la síntesis de ácidos grasos y aminoácidos. Además, el hígado puede liberar glucosa a partir de glucógeno o sintetizar glucosa *de novo* en condiciones de hipoglucemia. Asimismo, como en otros tejidos, el hepatocito es capaz de oxidar glucosa para producir equivalentes de reducción (NADPH) y ribosa-5-fosfato empleados para la biosíntesis de otras biomoléculas y, en particular, para la síntesis de ácidos nucleicos. Otros tejidos, como el tejido adiposo, el músculo cardiaco y esquelético y el cerebro responden a las concentraciones plasmáticas de glucosa alterando su uso interno, pero no contribuyen a la homeostasis corporal de la glucosa liberando glucosa a la sangre.

El músculo cardiaco y esquelético pueden oxidar completamente la glucosa o almacenarla en forma de glucógeno. En el corazón, el metabolismo de la glucosa es siempre aerobio mientras que el músculo esquelético, en condiciones de aporte insuficiente de oxígeno por periodos limitados de tiempo, puede también oxidar la glucosa de forma anaerobia (*ver Capítulo 1.9*).

En el tejido adiposo, la glucosa puede se degradada parcialmente para proveer glicerol, necesario para la síntesis de triglicéridos, u oxidada totalmente y proveer unidades de dos carbonos (acetil-CoA) para la síntesis de ácidos grasos. Bajo condiciones de necesidad de energía, el tejido adiposo puede liberar combustible metabólico en forma de ácidos grasos libres circulantes en el torrente sanguíneo.

El cerebro es dependiente del suministro continuo de glucosa, que es capaz de oxidar completamente hasta CO_2 y agua. Por otra parte, los eritrocitos tienen una capacidad limitada de oxidar glucosa, ya que no tienen mitocondrias, pero la obtención de energía depende exclusivamente de ese combustible metabólico oxidándola parcialmente hasta lactato vía glucólisis. Otras células especializadas, como las células de la córnea, el cristalino, la retina, los leucocitos, las células testiculares y las células de la médula renal, son eminentemente glucolíticas (*ver Capítulo 1.9*).

La glucosa también sirve como molécula precursora para la síntesis del resto de los hidratos de carbono constituyentes de glicoproteínas, proteoglicanos y glicolípidos corporales. Estas biomoléculas complejas son componentes importantes de los fluidos corporales, la matriz de los tejidos, las membranas y las superficies celulares (*ver Capítulo 1.9*).

2.5.2. Lípidos

Los lípidos de la dieta están constituidos mayoritariamente por triglicéridos (grasas) y pequeñas cantidades de otros lípidos complejos tales como fosfolípidos, colesterol y otros componentes minoritarios (ceras, glicolípidos, vitaminas liposolubles, etc.). Las funciones más importantes de los lípidos de la dieta son servir de fuente de energía metabólica, proveer de elementos estructurales para las membranas celulares, servir como fuente de agentes emulsionantes, para la propia absorción de los triglicéridos, y como lubricantes de las superficies corporales, servir de vehículo para el transporte de vitaminas liposolubles (A, D, E y K) y actuar como precursores de hormonas y de otras moléculas de señalización celular. Estas funciones requieren diferentes clases de lípidos que difieren ampliamente en su estructura (*ver Capítulos 1.11 y 1.12*).

Los lípidos en forma de triglicéridos desempeñan una función crítica en el metabolismo como sustancias fundamentales para el almacenamiento de energía en el organismo. Alrededor del 85% de la energía almacenada en un adulto varón está en forma de triglicéridos en el tejido adiposo. La grasa de la dieta supone una forma concentrada de energía. Por ejemplo, la grasa de la leche materna es la fuente más importante de energía para el recién nacido, alcanzando el 55% de la energía total de la dieta. En el adulto, el consumo de grasa oscila entre el 35 y el 45% de la energía total consumida diariamente; un adulto sano en equilibrio metabólico consume alrededor de 100 g de grasa al día, equivalentes a 900 kcal.

Cuando el contenido calórico de la dieta excede los requerimientos energéticos inmediatos del individuo, los hidratos de carbono, y en menor medida los aminoácidos, pueden ser transformados en ácidos grasos y esterificados con glicerol para formar triglicéridos. Éstos representan una

forma muy eficiente de almacenar energía, ya que su valor energético es alrededor de 9 kcal/g, frente a los hidratos de carbono y a las proteínas cuyo valor energético es tan sólo de 4 kcal/g. Además, los triglicéridos pueden almacenarse en un estado relativamente anhidro, requiriendo 1 g de agua/g de triglicérido, mientras que el glucógeno y las proteínas necesitan 4 g de agua por gramo de sustancia seca para mantener un estado de hidratación adecuado.

El principal papel estructural de los lípidos es contribuir al mantenimiento de la estructura de la membrana plasmática y de las membranas subcelulares. Los componentes fundamentales de las membranas celulares son fosfolípidos, glicolípidos y colesterol, cuyas proporciones varían según el tipo celular y el tipo de membrana.

Los lípidos también desempeñan una función importante en la lubrificación y en el acondicionamiento de las superficies corporales. La mayoría de las glándulas sebáceas, que segregan un líquido compuesto por triglicéridos, escualeno y ceras, están situadas en la piel, y en las membranas mucosas de los orificios externos corporales.

Los lípidos desempeñan importantes funciones de señalización, tanto en el exterior como en el interior de las células (*ver Capítulos 1.4 y 1.5*). Las hormonas esteroídicas y la vitamina D son derivados del colesterol que intervienen en numerosas vías de señalización extracelular. Los eicosanoides, derivados de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, y el factor activador de las plaquetas, derivado del ácido araquidónico, son también importantes sustancias en los procesos de señalización extracelular. Por otra parte, en el interior de las células, los diacilgliceroles y ciertas moléculas derivadas de los fosfolípidos y de los esfingolípidos están implicados en la transmisión de señales desde la membrana plasmática hasta enzimas citosólicas, compartimentos celulares y proteínas que regulan la expresión de genes en el núcleo.

2.5.3. *Proteínas y otros componentes nitrogenados de los alimentos*

Los alimentos contienen diversos compuestos de naturaleza nitrogenada entre los cuales se encuentran proteínas, ácidos nucleicos, aminoácidos libres y otros compuestos minoritarios, muchos de los cuales contribuyen al sabor de los mismos. Entre todos esos compuestos, las proteínas son, con mucho, los nutrientes más importantes.

La proteína de la dieta es, no sólo necesaria para el mantenimiento de la proteína corporal, sino imprescindible para el incremento de la proteína corporal asociada al crecimiento. Si se limita la ingesta energética o la proteína se produce un retraso en el crecimiento. En el adulto, una ingesta adecuada de proteínas mantiene la masa corporal proteica y la capacidad de adaptación a diferentes condiciones metabólicas y ambientales. La pérdida de proteínas corporales se asocia a numerosas patologías y a un aumento de la mortalidad. Cuando las pérdidas de proteínas son superiores al 30% del total de proteína corporal, la proporción de supervivencia disminuye hasta el 20%.

La proteína supone aproximadamente el 17% de la masa corporal. Las proteínas desempeñan funciones estructurales (colágenos), facilitan la movilidad (actina y miosina en la contracción muscular), intervienen en el transporte de numerosas sustancias en los fluidos corporales (hemoglobina, transferrina, ceruloplasmina, etc.), y a través de las membranas (sistemas de transporte), intervienen como biocatalizadores en numerosas reacciones biológicas (enzimas), participan en la regulación del sistema inmune (inmunoglobulinas y citokinas) y actúan como reguladores en numerosos procesos de crecimiento, desarrollo y diferenciación celular (factores de crecimiento, factores de transcripción, etc.). Aunque la diversidad funcional de las proteínas es enorme, aproximadamente una cuarta parte de las proteínas corporales está formada por las proteínas estructurales colágenos, actina y miosina, y por la hemoglobina, proteína especializada en el transporte de oxígeno.

La proteína corporal está distribuida en todos los órganos, con una parte mayoritaria en el tejido muscular (alrededor del 40%). Las proteínas del músculo, además de servir para la locomoción y el esfuerzo, también son la fuente de aminoácidos en situaciones de estrés. No obstante, la proteína muscular no es un depósito como el glucógeno o la grasa, ya que su pérdida representa una pérdida de proteína funcional. La proteína contenida en los tejidos viscerales, tales como el hígado y el intestino, representa aproximadamente el 10% del total corporal y no se moviliza en situaciones de estrés, al contrario de lo que ocurre con la pro-

teína muscular, con objeto de preservar sus funciones vitales.

Otra fracción importante de la proteína, aproximadamente un 30%, está contenida en la sangre y la piel. Algunas proteínas estructurales, como el colágeno, se preservan en situaciones de desnutrición, no a causa de su función esencial, sino precisamente para preservar la estructura corporal de manera que no resulte degradada.

Las proteínas y los aminoácidos son sustancias únicas en cuanto a la proporción de nitrógeno. Los ácidos nucleicos y otros compuestos, como los aminoazúcares, son también sustancias nitrogenadas pero su contenido nitrogenado es muy inferior (*ver Capítulo 1.16*). Las proteínas tienen un contenido medio de nitrógeno del 16% (factor de conversión de nitrógeno a proteína 100/16 = 6,25). Dado que el nitrógeno es relativamente fácil de medir, los cambios en la masa proteica corporal puede estimarse por la diferencia entre la ingesta de nitrógeno en la dieta y la cantidad de nitrógeno excretado. A esta diferencia se la conoce como balance nitrogenado. Cuando el balance nitrogenado es positivo, existe crecimiento tisular neto; cuando la excreción es superior a la ingesta, tal y como ocurre en el ayuno o en situaciones de enfermedad, hay pérdida de proteína corporal.

Al contrario de lo que ocurre con las proteínas, los ácidos nucleicos contenidos en la dieta representan una fracción pequeña del nitrógeno total ingerido (entre 300 y 500 mg/día de bases púricas y, aproximadamente, la misma cantidad de bases pirimidínicas). Los ácidos nucleicos no se consideran macronutrientes en sentido estricto, ya que en gran medida son metabolizados en el intestino y no se utilizan como combustibles metabólicos. No obstante, una parte muy significativa de los nucleósidos y bases procedentes de la hidrólisis de los ácidos nucleicos, junto a pequeñas cantidades de nucleósidos procedentes de nucleótidos libres presentes en los alimentos, son absorbidos por el intestino, distribuidos a otros tejidos y utilizados metabólicamente para la biosíntesis de nuevos nucleótidos.

En los últimos 25 años se han obtenido evidencias de funciones importantes para los nucleótidos de la dieta, especialmente como moduladores del metabolismo lipídico, en la proliferación y reparación tisular y en la modulación del sistema inmune (*ver Capítulo 1.16*).

2.5.4. Vitaminas y minerales

Las vitaminas se definen como compuestos orgánicos que es necesario ingerir con la dieta en pequeñas cantidades para mantener las funciones corporales fundamentales (crecimiento, desarrollo, metabolismo e integridad celular). Esta definición distingue las vitaminas de los macronutrientes, ya que no son catabolizadas para obtener energía y no se utilizan para propósitos estructurales; por tanto, las vitaminas se necesitan en cantidades mucho más pequeñas que los hidratos de carbono, los lípidos y las proteínas. Las vitaminas se distinguen de los minerales, que también se requieren en cantidades menores que los nutrientes utilizados con fines energéticos, por su naturaleza orgánica, frente a la inorgánica de los minerales.

Los efectos curativos de ciertos alimentos se han conocido desde la Antigüedad; así, el hígado de animales era recomendado por los egipcios para la curación de la ceguera nocturna, hace casi tres siglos se descubrió el efecto de los frutos cítricos en el escorbuto y hace siglo y medio el efecto de la carne, la leche y las verduras en la erradicación del beri-beri de los marineros japoneses, alimentados en gran medida a base de arroz descascarillado. Durante el siglo XX se han aislado, identificado y sintetizado 13 vitaminas, y se ha determinado su mecanismo de acción, aunque para algunas de ellas existen lagunas sobre su actuación en procesos biológicos específicos.

Las vitaminas incluyen ocho sustancias del denominado complejo B (tiamina, riboflavina, piridoxina, niacina, cobalamina, folato, biotina y ácido pantoténico), la vitamina C o ácido ascórbico, y las vitaminas liposolubles A, D, E y K. Algunas de ellas no son estrictamente esenciales; así, la vitamina D es sintetizada por la piel expuesta a la luz solar y la niacina se sintetiza a partir de triptófano. La mayor parte de ellas no se relacionan químicamente y difieren en sus funciones biológicas (*ver Capítulos 1.20-1.24*).

Todas las vitaminas B, la vitamina C y la vitamina K reducida se requieren como coenzimas o como componentes de coenzimas y participan en numerosas reacciones metabólicas. Las otras funciones de las vitaminas son más variadas. La vitamina D es el precursor del 1,25 dihidroxicolecalciferol, un compuesto esencial en el desarrollo y modelado del tejido óseo y en numerosas funciones celulares de otros tejidos.

La vitamina A se requiere para la formación del ácido todo-*trans*-retinoico que regula la proliferación y diferenciación de varios tejidos, y en la forma de 11-*cis*-retinal actúa como pigmento visual. La vitamina E actúa como un antioxidante lipídico y la vitamina C como un antioxidante en sistemas hidrofílicos.

De entre los aproximadamente 90 elementos minerales que se encuentran de forma natural en la naturaleza, 22 parecen ser esenciales para el ser humano. Los minerales se requieren en cantidades relativamente pequeñas y para funciones muy especializadas. No obstante, algunos de ellos, considerados como macroelementos (Ca, P, Mg, Na, K, Cl y S) se necesitan en cantidades diarias de más de 100 mg por el adulto. Los requerimientos de S se satisfacen a través de la ingesta de aminoácidos azufrados, de ahí que no se considere usualmente con los elementos minerales. Los microelementos u oligoelementos pueden clasificarse en dos grupos: los elementos traza, que se necesitan en cantidades que oscilan entre 1 y 100 mg/día y los elementos ultratraza cuya ingesta diaria es inferior a 1 mg. Los elementos traza incluyen Fe, Zn, Mn, Cu y F, y los elementos ultratraza Se, Mo, I, Cr, B y Co. Existen ciertas evidencias, obtenidas en estudios experimentales en animales, de que los metales As, Ni, V y Si pueden ser necesarios para algunas funciones fisiológicas, aunque no se ha demostrado que sean esenciales para la especie humana.

Los minerales desempeñan una serie variada de funciones en el organismo (*ver Capítulos 1.25-1.30*). El depósito de Ca, P, Mg y F en la hidroxiapatita es esencial para la formación de hueso. Asimismo, el Ca es considerado un importante segundo mensajero en la comunicación celular. El Na, el K y el Cl, así como el Ca, el Mg, el sulfato y el fosfato, son electrólitos importantes implicados en el equilibrio iónico y osmótico y en los gradientes eléctricos.

Muchos de los oligoelementos se encuentran asociados a enzimas y a otras proteínas en las cuales estos metales actúan como elementos estructurales o catalíticos. Ejemplos de estas asociaciones se dan con el Zn, que contribuye al mantenimiento de la estructura terciaria de varias enzimas y factores de transcripción génica, con el Fe en el mantenimiento de la estructura de la mioglobina, de la hemoglobina y de varios citocromos, con el Cu en el mantenimiento de la estructura de citocromos y de la superóxido dismutasa y con el Se como elemento catalítico de la glutation peroxidasa.

Algunos minerales se necesitan para la síntesis de compuestos especializados, como el I para las hormonas tiroideas, el Se para la selenocisteína en la síntesis de las selenoproteínas y el Mo para la síntesis de un cofactor orgánico necesario en varias enzimas de los mamíferos.

2.6. Equilibrio y balance de nutrientes

El patrón de ingesta energética a través de los alimentos en el ser humano es esporádico, ya que se toman cantidades discretas de los mismos, que se digieren, se absorben y se distribuyen por la circulación sanguínea en periodos concretos. Por tanto, el organismo debe ser capaz de tomar los macronutrientes y almacenarlos, al menos en parte, y oxidarlos cuando sea necesario. Esto requiere mecanismos precisos de regulación del suministro de combustible ya que, al contrario de lo que ocurre con una máquina simple, en el ser humano existen varios tipos de combustible y cada órgano o tejido no utiliza los mismos.

No todos los combustibles metabólicos están disponibles al mismo tiempo para los tejidos, y la utilización de combustibles exógenos o endógenos debe estar equilibrada y regulada para mantener el buen funcionamiento del organismo u homeostasis. Los combustibles mayoritarios en el organismo humano son la glucosa, los ácidos grasos, los aminoácidos y los cuerpos cetónicos, aunque el lactato, el glicerol y el alcohol pueden ser también fuente de energía para algunos tejidos en determinadas circunstancias **(Tabla 1)**.

Cuando el alimento es abundante, la energía que excede a las necesidades actuales se almacena en forma de glucógeno y de triglicéridos (grasa). Cuando no existe disponibilidad de alimentos, la energía almacenada es utilizada para satisfacer las necesidades actuales de manera que se debe de cumplir la ecuación siguiente:

Depósitos de energía corporal = ingesta energética - gasto energético

Esta ecuación responde al concepto de **equilibrio de nutrientes**, también denominado **balance de nutrientes** **(Figura 1)**. El equilibrio cero indica que el aporte de energía derivada de

Tabla 2. ALMACENAMIENTO DE MACRONUTRIENTES EN RELACIÓN CON LA INGESTA DIARIA

Macronutriente	Cantidad corporal (kg)	Energía corporal (Mj)	N.º días para agotar el depósito	Ingesta diaria (g)	Ingesta diaria (% de lo almacenado)
Hidratos de carbono	0,5	8,5	< 1	300	60
Grasas	12-18	550	56	100	0,7
Proteínas	12	200	(20)	100	0,8

Para el número de días necesarios para agotar el depósito, se ha considerado un gasto energético diario de 10 Mj.
La cifra entre paréntesis hace referencia a que la proteína no puede satisfacer por sí sola las necesidades energéticas.
Fuente: Gibney M, MacDonald I, Roche HM. Nutrition & Metabolism. Blackwell Publishing Company. London, 2003: 75.

los nutrientes está equilibrado con su utilización y que los depósitos corporales permanecen constantes. El balance positivo ocurre cuando la ingesta excede a la utilización y el almacén se expande; por el contrario, el balance negativo tiene lugar cuando la utilización energética es mayor que el aporte y los depósitos comienzan a vaciarse llegando incluso a la depleción completa.

En relación con el metabolismo de los macronutrientes, el concepto de equilibrio o balance se aplica especialmente a las proteínas y a la energía. Sin embargo, la consideración del equilibrio aplicado a cada uno de los macronutrientes por separado es muy útil en condiciones de composición alterada de la dieta, por ejemplo, en situaciones de utilización de dietas con bajo contenido de grasa o de hidratos de carbono **(Tabla 2)**.

El balance no sólo es una función de la ingesta de nutrientes, sino también de las pérdidas provocadas por el metabolismo. El equilibrio positivo de grasa es debido a una ingesta excesiva de energía con relación al gasto durante periodos relativamente largos, y el balance negativo ocurre cuando de forma deliberada la ingesta se mantiene por debajo del gasto energético. Sin embargo, el equilibrio de nutrientes puede ser dirigido por reguladores metabólicos tales como hormonas y citokinas. Por ejemplo, la secreción de hormona del crecimiento durante la infancia y la niñez asegura un balance positivo de energía y de nutrientes. Durante el embarazo, un variado número de hormonas conducen al balance positivo de todos los nutrientes a través del aumento de los depósitos placentarios, fetales y maternos (*ver Capítulo 1.33*).

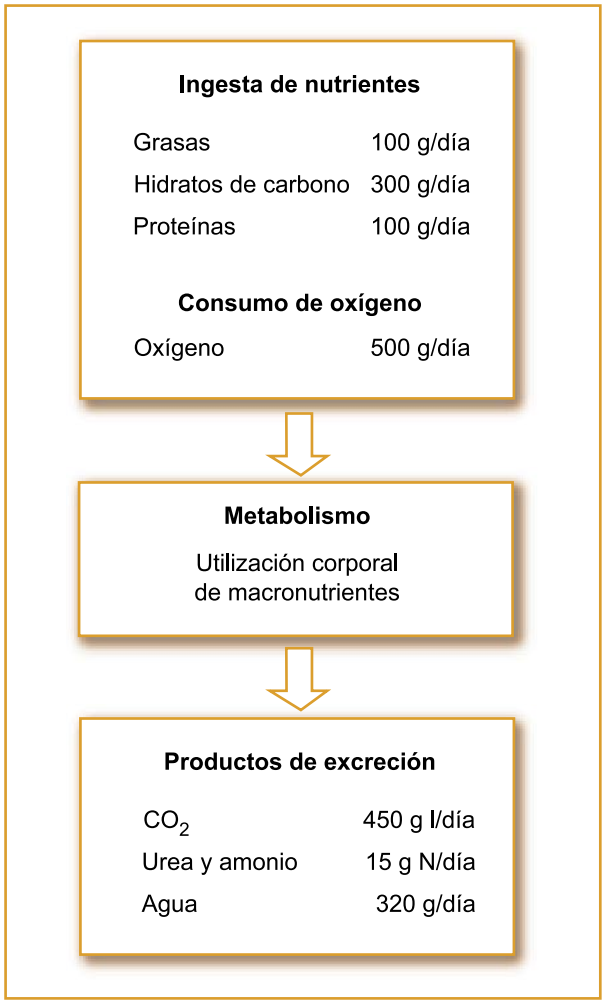


Figura 2. *Utilización global de los macronutrientes por el organismo humano. Las cifras se refieren a un hombre de 70 kg de peso.*

El equilibrio de nutrientes no es algo que deba ser considerado en términos de plazos cortos de tiempo. Después de cada comida, se produce un almacenamiento de los nutrientes absorbidos (triglicéridos en el tejido adiposo o glucógeno en el hígado y músculo) o un cese en la pérdida de nutrientes almacenados (hidrólisis de los triglicéridos del tejido adiposo hasta ácidos grasos no esterificados o conversión de aminoácidos hasta glucosa vía gluconeogénesis) (*ver Capítulos 1.9, 1.11 y 1.12*). Conforme el periodo posprandial avanza, los nutrientes almacenados comienzan a ser utilizados. Cuando el balance se mide en periodos suficientemente largos, lo cual varía para cada uno de los nutrientes, es cuando se puede hablar de equilibrio o de balance positivo o negativo de nutrientes.

La **Figura 2** muestra la utilización global de los macronutrientes por el organismo humano en un hombre de 70 kg de peso.

2.7. Recambio metabólico de los nutrientes

Aunque la composición corporal pueda parecer constante, ello no significa que las partes constituyentes permanezcan estáticas. De hecho, la mayoría de los sustratos metabólicos están siendo continuamente utilizados y reemplazados (recambio o *turnover*). Este proceso de recambio se ilustra al considerar el metabolismo proteico corporal (*ver Capítulo 1.6*). La ingesta proteica diaria de un adulto oscila entre 50 y 100 g y la proporción de excreción urinaria de nitrógeno equilibra la ingesta proteica. Sin embargo, la proporción de proteína degradada, medida isotópicamente, es del orden de 350 g. Esto se equilibra con una síntesis diaria de proteína equivalente a partir de aminoácidos preexistentes derivados de la degradación (recambio), más que a partir de la síntesis *de novo* a partir de aminoácidos de la dieta.

El recambio metabólico ocurre también con otros nutrientes como la glucosa, cuyo contenido en sangre permanece relativamente constante y en equilibrio a través de la síntesis hepática y la utilización por otros tejidos.

El concepto de recambio puede aplicarse a varios niveles dentro del organismo (molecular, celular, tejidos, órganos y corporal). De esta manera, la concentración de compuestos ricos en energía, especialmente ATP (*ver apartado 3.1.1*), se mantiene prácticamente constante dentro de cada célula a través del equilibrio entre síntesis e hidrólisis.

Por otra parte, dentro de cada tejido u órgano existe un recambio continuo de células. Algunas de las mismas tienen una vida media larga, como los eritrocitos (120 días), mientras que otras tienen una vida media de tan sólo 8-10 días, como las plaquetas. La principal ventaja de este proceso de recambio es que el organismo es capaz de responder rápidamente a los cambios de estado metabólico, alterando, así, tanto la síntesis como la degradación, para conseguir la respuesta necesaria.

Como consecuencia de este proceso de recambio existe un coste elevado de energía para mantener el proceso continuo de síntesis de macromoléculas; además, la posible alteración entre las proporciones de síntesis y de degradación puede conducir a la disfunción orgánica.

Por otra parte, la proporción de recambio metabólico, especialmente de las proteínas, es muy variable, ya que depende fundamentalmente de la propia secuencia de aminoácidos y de la regulación de la expresión génica.

2.8. Flujo de nutrientes a través de las vías metabólicas

El flujo de un nutriente a través de una vía metabólica supone una medida de la actividad de dicha vía. Por ejemplo, si se considera el flujo de glucosa desde la sangre hasta los tejidos, la tasa de utilización es aproximadamente de 2 mg/kg de peso corporal por minuto. Sin embargo, ello no conduce a una disminución en la concentración de glucosa, porque la utilización es compensada con la producción de glucosa por el hígado de manera que el flujo neto es cero.

Este concepto de flujo puede aplicarse a nivel celular, tisular o corporal, y también puede relacionarse con la conversión de un sustrato metabólico o nutriente en otro. Sin embargo, el flujo no se relaciona necesariamente con el tamaño de un *pool* metabólico o con una vía determinada. Por ejemplo, la membrana celular tiene varios tipos de fosfolípidos, cada uno de los cuales tiene un perfil de ácidos grasos diferente y la proporción de ácido

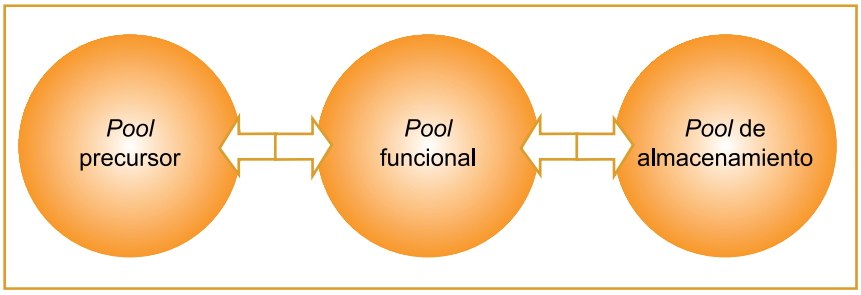


Figura 3. *Tipos de* pools *de nutrientes y de metabolitos en el organismo humano.*

araquidónico que se recambia en cada fosfolípido es también diferente.

2.9. *Pools* de nutrientes y metabolitos

Un aspecto importante del metabolismo es que los nutrientes y metabolitos están presentes en varios *pools* en el organismo. Al nivel más simple, para un metabolito dado existen tres *pools*: precursor, funcional y de almacenamiento. La **Figura 3** muestra los tipos de *pools* de nutrientes y de metabolitos en el organismo humano.

El *pool* precursor provee el sustrato a partir del cual se puede sintetizar un nutriente o metabolito. Por ejemplo, en relación con la síntesis de los eicosanoides (*ver Capítulo 1.6*), los ácidos grasos esenciales linoleico y linolénico, provenientes exclusivamente de la dieta, representan el *pool* precursor para los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, presentes en cantidades relativamente elevadas en las membranas celulares. El *pool* funcional para la síntesis de eicosanoides serían los ácidos eicosatrienoico, araquidónico e eicosapentaenoico liberados de los fosfolípidos de las membranas mediante el estímulo de una señal extracelular, que desencadenaría la formación de eicosanoides al activarse la ciclooxigenasa, una enzima clave en el proceso. El *pool* de almacenamiento estaría representado por el contenido de dichos ácidos grasos en los fosfolípidos de las membranas.

No todos los nutrientes disponen de estos tres tipos de *pool*. Así, los nutrientes esenciales y los minerales y oligoelementos no disponen de un *pool* precursor, ya que necesariamente deben ser ingeridos con la dieta. Sin embargo, muchos de ellos disponen de *pools* de almacenamiento, lo que explica que estos compuestos no disminuyan su concentración en el plasma sanguíneo por el ayuno.

Otro ejemplo de cómo el concepto de los *pools* ayuda a comprender la nutrición y el metabolismo es el *pool* intracelular de aminoácidos. Éste es el *pool* funcional a partir del cual se sintetizan las proteínas en una célula; conforme este *pool* va disminuyendo, debe de irse rellenando o la síntesis de proteínas cesaría. Para ello, además del flujo de entrada de aminoácidos desde el exterior celular, existe una tasa considerable de degradación de proteínas que permite suministrar aminoácidos, especialmente esenciales, en cantidades adecuadas para que se alcance el equilibrio.

El tamaño de los *pools* varía sustancialmente para cada nutriente o metabolito. Al estudiar las actividades de los diferentes procesos metabólicos en el organismo, es a menudo necesario medir o estimar el tamaño de los *pools* con objeto de obtener información sobre la importancia cuantitativa de dichos procesos. Así, la evaluación del estado nutricional para un nutriente determinado implica, con frecuencia, determinar su concentración plasmática, o en alguna fracción del plasma, en eritrocitos, en células del sistema inmune, o incluso en algún otro tejido obtenido por biopsia, muestras de saliva, células bucales, pelo, uñas, orina, etc.

El conocimiento del comportamiento de un nutriente en diferentes *pools* es crítico para establecer el estado nutricional de ese compuesto. Por ejemplo, los niveles de folato en el plasma varían de acuerdo con la ingesta cercana de alimentos y, por consiguiente, están sometidos a fluctuaciones importantes. Sin embargo, las concentraciones de folato en los eritrocitos son un buen marcador de la ingesta a largo plazo de esta vitamina, ya que dichas células no tienen núcleo y no disponen de enzimas que lo metabolicen. Otro ejemplo lo constituye la forma libre de muchos minerales y oligoelementos potencialmente tóxicos, presentes en el plasma en concentraciones reguladas muy estrictamente. Por esta razón, los niveles en el plasma de muchos elementos minerales no son buenos marcadores del estado nutricional y se recurre a la medida de otros *pools*.

2.10. Adaptaciones metabólicas a la ingesta alterada de nutrientes

En muchas circunstancias, el organismo es capaz de responder a estados nutricionales o metabólicos alterados con objeto de minimizar las consecuencias de tales alteraciones. Así, en un proceso de desnutrición, la ingesta de hidratos de carbono no se corresponde con las necesidades corporales, y la primera adaptación a este ambiente alterado es el incremento de la producción de glucosa mediante un aumento del proceso de gluconeogénesis a partir de aminoácidos provenientes de la degradación muscular.

Inevitablemente, esta adaptación implica otras dos adaptaciones: el uso por el cerebro de otros combustibles alternativos a la glucosa, como son los cuerpos cetónicos, y la disminución general del gasto energético en reposo, con objeto de establecer un nuevo equilibrio metabólico. El desmedro de los niños con desnutrición proteica y proteico-energética es un ejemplo de esta adaptación, en la que el resultado final es un fallo de crecimiento. En muchas ocasiones, la proporción de absorción de nutrientes puede aumentar como un mecanismo adaptativo frente a la ingesta disminuida. Algunas adaptaciones pueden ocurrir durante un periodo de tiempo en espera de que la ingesta normal de un nutriente se normalice. De hecho, la adaptación a circunstancias metabólicas y nutricionales adversas es una situación asociada a la capacidad de supervivencia de nuestra especie.

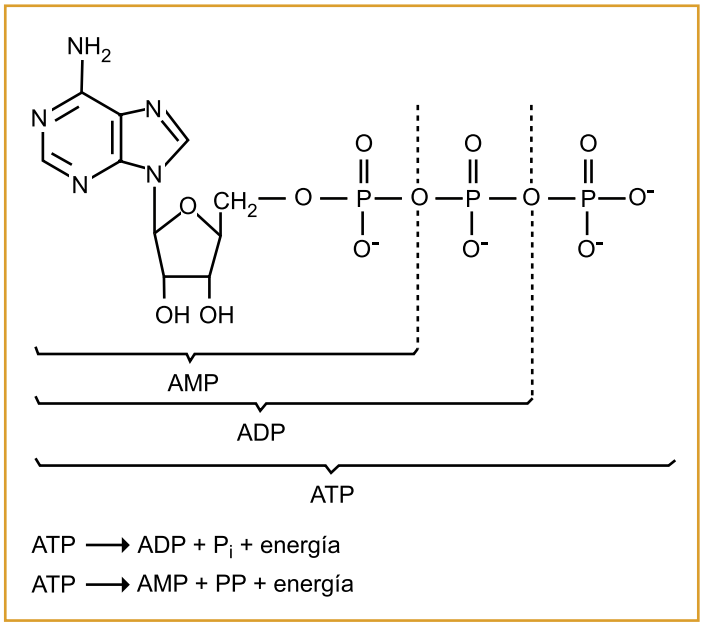


Figura 4. *Estructura química y reacciones más características del ATP.*

3. Metabolismo energético y metabolismo intermediario

Como se ha indicado en el apartado 2.1, se conoce con el nombre de metabolismo a las transformaciones químicas que sufren los nutrientes en los tejidos, una vez superados los procesos de digestión y absorción correspondientes. Es clásico distinguir entre metabolismo energético y metabolismo intermediario, aunque se trata de dos partes del mismo proceso. Los aspectos energéticos del metabolismo se refieren a la producción y utilización de energía en las vías metabólicas, mientras que el metabolismo intermediario está constituido por el estudio detallado de dichas vías.

3.1. Metabolismo energético

3.1.1. Compuestos "ricos en energía"

Una función importante de algunos nutrientes, concretamente los macronutrientes, hidratos de carbono, grasas y proteínas, es la de suministrar la energía necesaria para permitir el funcionamiento del organismo. Sin embargo, los tejidos no pueden utilizar directamente la energía contenida en las citadas macromoléculas nutricionales. Por ello, los macronutrientes deben sufrir distintos procesos metabólicos para producir finalmente una molécula única, el adenosín trifosfato (ATP), en cuyos enlaces se almacena parte de dicha energía. Posteriormente, este compuesto es el que suministra energía para cualquier trabajo celular.

El ATP es un nucleósido trifosfato. Los dos enlaces pirofosfato que contiene producen una gran cantidad de energía cuando se hidrolizan (y la necesitan igualmente para formarse). Las reacciones más características de esta molécula se especifican en la **Figura 4**. El ATP es el prototipo de lo que se suelen denominar compuestos "ricos en energía". Se trata siempre

Tabla 3. ENERGÍA LIBRE DE HIDRÓLISIS DE ALGUNOS INTERMEDIARIOS METABÓLICOS

Compuesto	Energía (kcal/mol)
Fosfoenol-piruvato	-14,8
Carbamil-fosfato	-12,3
1,3 bis-fosfoglicerato	-11,8
Creatín-fosfato	-10,3
ATP (a ADP)	-7,3
Glucosa 6-fosfato	-3,3

de compuestos que liberan una importante cantidad de energía cuando se rompen determinados enlaces, generalmente por hidrólisis. Por eso se suele hablar también en estos casos de "energía de hidrólisis". En el caso del ATP, la rotura hidrolítica de cualquiera de sus enlaces pirofosfato libera una energía superior a 7 kcal por mol (7,3 para la producción de ADP a partir de ATP y 8,2 para la producción de AMP a partir de ATP). De una manera muy simple se puede explicar esta liberación de energía, porque los productos resultantes de la hidrólisis son mucho más estables que el compuesto original.

Lógicamente, las moléculas estructuralmente similares al ATP, como lo son los demás nucleósidos difosfato (*ver Capítulo 1.16*), se comportan energéticamente de la misma forma, proporcionando las mismas cantidades de energía. En cualquier caso, estos compuestos se utilizan poco en las reacciones metabólicas, siendo el GTP el más utilizado. Concretamente, como se verá más adelante, se forma GTP en una etapa del ciclo de Krebs y se utiliza GTP en una de las reacciones de la gluconeogénesis.

Es interesante subrayar que la energía sólo se libera en cantidades importantes desde el ATP cuando la hidrólisis se realiza sobre los enlaces pirofosfato (formación de ADP o AMP). La hidrólisis del enlace siguiente, que no tiene ese carácter, proporciona una energía mucho menor. Por otra parte, la hidrólisis del propio pirofosfato inorgánico también produce una gran cantidad de energía.

Como se ha mencionado anteriormente, la hidrólisis del ATP se aprovecha para la realización de todo el trabajo celular, incluidas las reacciones metabólicas que necesitan energía. En este tipo de reacciones no sólo están incluidas las que constituyen las vías biosintéticas (vías anabólicas), sino también algunas que forman parte de las vías degradativas (vías catabólicas). Aunque estas últimas rutas metabólicas están diseñadas para originar energía, algunas etapas iniciales necesitan aporte energético. Como se verá en el Capítulo 1.9, la metabolización de la glucosa exige en primer lugar la formación de glucosa-6-fosfato; y la metabolización de los ácidos grasos (*ver Capítulo 1.12*) comienza por la formación de los acil-CoA. Tanto la glucosa-6-fosfato como los acil-CoA son compuestos relativamente ricos en energía y sólo pueden formarse si su síntesis se acopla a la hidrólisis del ATP.

Además de los azúcares-fosfato y de los acil-CoA, existen otros compuestos ricos en energía de gran interés metabólico. El 1,3 bis-fosfoglicerato y el fosfoenol-piruvato son dos intermediarios glucolíticos (*ver Capítulo 1.9*) cuya energía de hidrólisis es superior a la del ATP, por lo que facilitan la síntesis de este último (*ver apartado 3.1.3*). El creatín-fosfato tiene una energía de hidrólisis un poco más alta que la del ATP, por lo que se puede formar a partir de éste y regenerarlo posteriormente de acuerdo con las condiciones celulares (*ver apartado 3.1.4*). Por último, el carbamil-fosfato tiene una energía de hidrólisis superior a la del ATP y necesita la hidrólisis de dos moléculas de ATP para su formación. Este aporte de energía es fundamental, ya que el carbamil-fosfato tiene un papel clave en la síntesis de urea a partir de amoniaco y dióxido de carbono (*ver Capítulo 1.14*). En la **Tabla 3** se indica la energía libre de hidrólisis de algunos de los compuestos que se acaban de describir.

De todo lo anterior se deduce fácilmente que el ATP ocupa un papel central en el metabolismo energético, de ahí su identificación como "moneda energética" del organismo. La obtención de ATP a partir de los nutrientes puede hacerse por dos vías diferentes:

a) Con el concurso del oxígeno: fosforilación oxidativa.

b) Sin el concurso del oxígeno: fosforilación a nivel de sustrato.

3.1.2. Fosforilación oxidativa

Mediante esta vía, los macronutrientes sufren un proceso de oxidación que se puede resumir en dos fases.

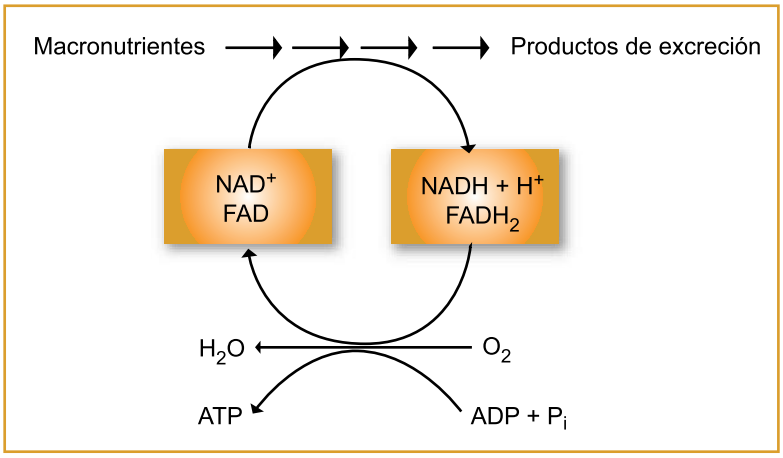


Figura 5. *Fosforilación oxidativa (respiración).*

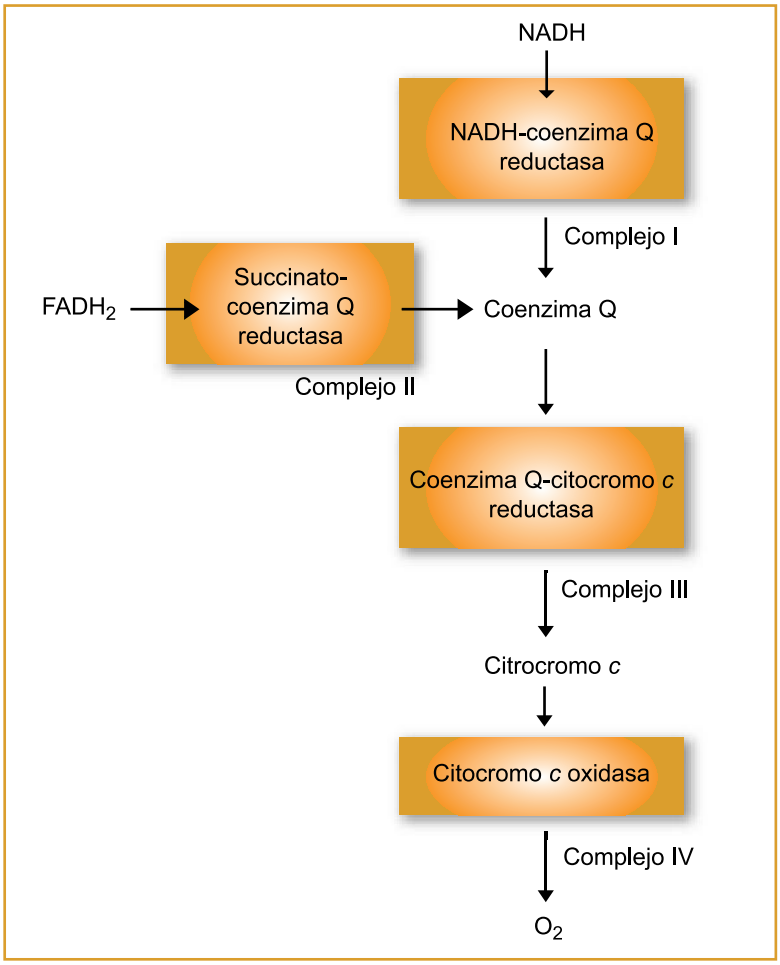


Figura 6. *Componentes de la cadena respiratoria.*

En primer lugar, se obtienen coenzimas reducidos, especialmente NADH y $FADH_2$. Estos coenzimas derivan de vitaminas hidrosolubles (niacina y riboflavina, respectivamente) (*ver Capítulo 1.21*). La reducción de estos coenzimas supone la utilización del hidrógeno de los nutrientes. Por ello, las grasas originan una mayor cantidad de coenzimas reducidos, ya que los ácidos grasos contienen en sus moléculas una mayor proporción de hidrógeno que los hidratos de carbono o las proteínas. Como se describirá en el apartado siguiente, la formación de los coenzimas reducidos se puede realizar en diversas etapas del metabolismo, pero la fuente principal es el ciclo de Krebs.

Estos coenzimas reducidos se incorporan a las cadenas respiratorias mitocondriales. En estas cadenas, los electrones de los coenzimas reducidos se transfieren hasta el oxígeno. La reducción final del oxígeno molecular ingresado por la respiración produce agua y la energía resultante se utiliza para sintetizar ATP mediante el proceso de la fosforilación oxidativa, que está acoplado a la cadena de transporte electrónico **(Figura 5)**.

a) Cadenas de transporte electrónico. Las cadenas de transporte electrónico están constituidas por diversas moléculas (flavoproteínas, coenzima Q, citocromos, etc.) que se disponen en la membrana interna mitocondrial ordenadas de acuerdo con sus potenciales de óxido-reducción (desde los más negativos hasta los más positivos). De esta forma, la energía se obtiene de forma escalonada, lo que permite su aprovechamiento biológico.

La mayoría de los transportadores están incluidos en cuatro agrupaciones o complejos fijos, mientras que hay dos transportadores libres o móviles (coenzima Q y citocromo *c*) **(Figura 6)**.

El complejo I (denominado NADH-coenzima Q reductasa) está constituido por flavoproteínas y ferrosulfoproteínas. Estas últimas contienen centros

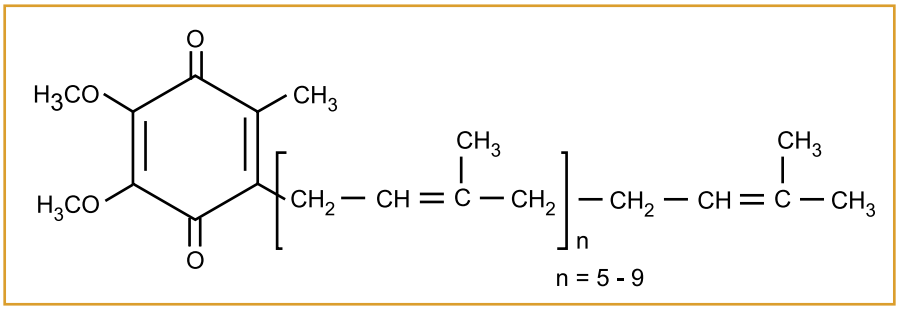


Figura 7. *Estructura química de la coenzima Q (ubiquinona) en su forma oxidada.*

hierro-azufre de tal manera que el átomo de hierro puede aceptar o donar electrones, como los citocromos (*ver más adelante*). Las flavoproteínas contienen FMN (flavín mononucleótido), que es un derivado de la riboflavina, capaz de transportar hidrógeno (*ver Capítulo 1.21*). De esta forma, funcionan como intermediarios en el transporte de hidrógeno desde el NADH hasta el coenzima Q. Este complejo constituye la entrada principal de equivalentes de reducción, ya que las moléculas de NADH proceden de una gran cantidad de reacciones de óxido-reducción.

El complejo II (succinato-coenzima Q reductasa) está constituido igualmente por flavoproteínas y ferrosulfoproteínas. En este caso, las flavoproteínas contienen FAD (flavín-adenín dinucleótido) y tienen carácter enzimático. Concretamente, poseen actividad succinato deshidrogenasa, ya que se trata de la enzima que cataliza una de las etapas del ciclo de Krebs (*ver más adelante*). En esta reacción, el succinato pasa a fumarato y el FAD se reduce a $FADH_2$. Este complejo constituye, por tanto, la entrada de este coenzima reducido procedente de la citada reacción. Además, constituye también la puerta de entrada de otras moléculas de $FADH_2$ procedentes de la actividad de otras enzimas catabólicas. En este caso, la transferencia hasta el coenzima Q se realiza directamente a través de las ferrosulfoproteínas.

El coenzima Q (llamado también ubiquinona) es un derivado de la benzoquinona que contiene una larga cadena isoprenoide **(Figura 7)**. Su constitución química le permite tener una forma oxidada con grupos ceto (quinona) y una forma reducida con grupos hidroxilo (hidroquinona). La cadena isoprenoide y su pequeña masa molecular facilitan su movilidad dentro de la membrana interna mitocondrial, permitiendo la conexión con los complejos I, II y III.

El complejo III (coenzima Q-citocromo *c* reductasa) está constituido por citocromos (citocromos *b* y citocromo c_1) y ferrosulfoproteínas. Los citocromos son proteínas unidas a grupos hemo. En este caso, el transporte desde el coenzima Q hasta el citocromo *c* ya no se realiza con átomos de hidrógeno, sino mediante cambios en el estado del ión hierro, desde el estado férrico oxidado (+3) hasta el estado ferroso reducido (+2).

El citocromo *c* es de pequeño peso molecular y muy hidrofílico, por lo que presenta una gran movilidad en la fase citosólica de la membrana interna mitocondrial.

El complejo IV (citocromo *c* oxidasa) está constituido también por citocromos (citocromo *a* y citocromo a_3) y por iones de cobre. El transporte de electrones se realiza desde el citocromo *c* hasta el oxígeno molecular.

La reducción del oxígeno molecular se traduce en la formación de agua. Para ello, se necesitan átomos completos de hidrógeno y no solamente electrones. En efecto, a partir del complejo III se ha descrito un flujo de electrones en lugar de un transporte de hidrógeno. Aunque el proceso es mucho más complicado, se puede decir que al llegar los hidrógenos al complejo III hay una disociación de los átomos de hidrógeno en electrones y protones. Los electrones se transportan a través de los complejos III y IV y los protones vuelven a coincidir con los electrones en la reducción del oxígeno. Es interesante resaltar, por otra parte, que la reducción de una molécula de oxígeno (O_2) exige la transferencia de cuatro electrones y cuatro protones para la formación de dos moléculas de agua ($2H_2O$). El proceso no transcurre exactamente así, sin embargo, ya que se producen también ciertas cantidades de especies moleculares, como el ión superóxido ($O_2^{\cdot -}$), formado por la llegada de un solo electrón. Esta molécula es lo que se denomina un radical libre, muy reactivo. En el Capítulo 1.19 se detallarán los procesos de formación de estas especies reactivas de oxígeno, sus efectos biológicos y la correspondiente defensa antioxidante.

b) Formación de ATP. El transporte de electrones desde los coenzimas reducidos hasta el oxígeno

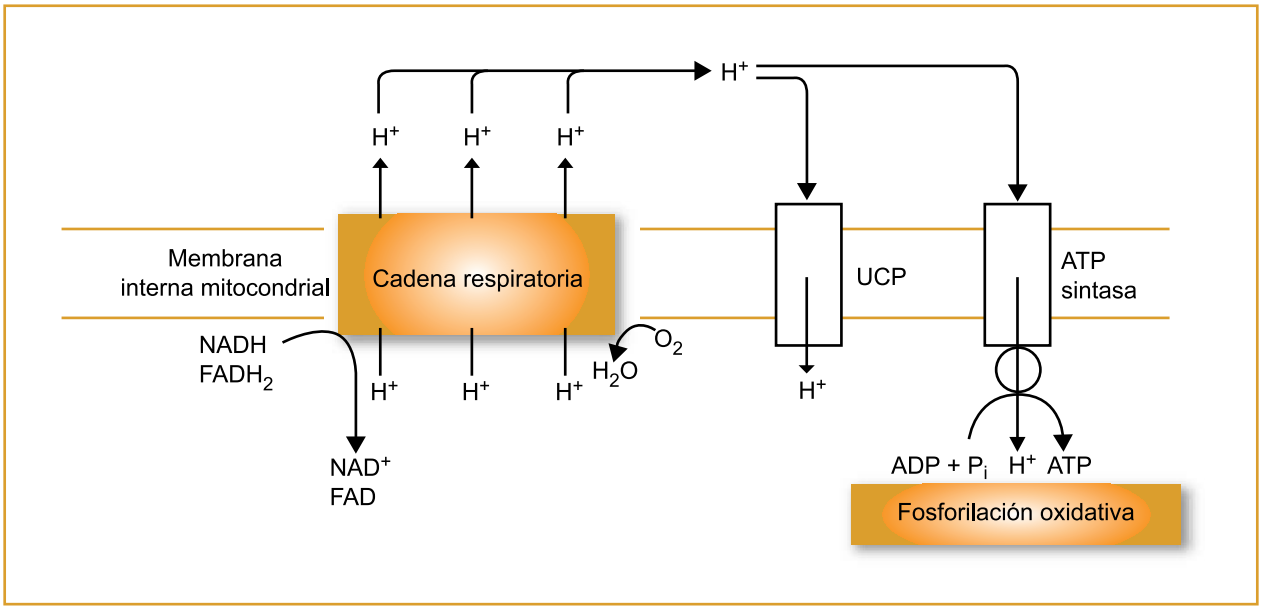


Figura 8. *Mecanismo de la producción de ATP por fosforilación oxidativa y proteínas desacoplantes (WCP).*

genera una gran cantidad de energía. El mecanismo para transformar esta energía en moléculas de ATP ha sido un misterio durante mucho tiempo. Hoy se acepta que para realizar esta síntesis de ATP se utiliza un mecanismo quimiosmótico que se puede describir de la siguiente forma **(Figura 8)**:

- La energía de óxido-reducción originada por el transporte electrónico se utiliza para bombear protones al exterior de la membrana interna mitocondrial.
- Los protones van acumulándose en el exterior de esta membrana, creándose un gradiente protónico.
- Existen unos canales en la membrana por los que los protones pueden volver a entrar al interior mitocondrial, siendo el resto de la membrana impermeable a ellos.
- La energía generada por la fuerza del movimiento de protones es aprovechada por un complejo enzimático (ATP sintasa) situado en estos canales para sintetizar el ATP a partir de ADP y fosfato.

En la membrana interna de las mitocondrias del tejido adiposo marrón existen unas proteínas denominadas termogeninas que permiten también la entrada de protones al interior mitocondrial, pero que no están conectadas con la ATP sintasa. Por ello, la fuerza del movimiento de protones no se utiliza en este caso para sintetizar ATP, sino que se disipa en forma de calor. Éste es el mecanismo que utiliza este tejido para cumplir su función termogénica. Aunque la cantidad de tejido adiposo marrón es muy pequeña en el ser humano adulto, es interesante resaltar que existen también proteínas semejantes en otros tejidos (tejido adiposo blanco, músculo, etc.). A todas estas proteínas se les denomina genéricamente UCP (***Uncoupler Proteins***: proteínas desacoplantes) y están implicadas en la regulación del balance energético (*ver Capítulo 1.18*).

c) Transporte de ATP. La mayor parte del ATP sintetizado en la mitocondria se utiliza en el espacio extramitocondrial. Pero la membrana mitocondrial no permite el transporte pasivo de las moléculas como el ATP, fuertemente cargadas. Inversamente, el ADP procede fundamentalmente del exterior mitocondrial y tiene que entrar en la mitocondria para poder pasar a ATPY tampoco el ADP puede transportarse de forma pasiva. Para que el ADP pueda entrar y el ATP pueda salir de la mitocondria, existen unas proteínas transportadoras (ATP-ADP translocasas) que permiten el intercambio de estos nucleótidos con el correspondiente gasto energético.

d) Rendimiento energético. Parece bien establecido que se necesita el flujo de tres protones por la ATP sintasa para generar una molécula de ATP a partir de ADP y fosfato. El transporte

adicional del ATP hacia el exterior mitocondrial y la entrada a la mitocondria del ADP exige el flujo por la ATP sintasa de otro protón. Se calcula que el transporte electrónico a partir de una molécula de NADH origina el bombeo de 10 protones. Por tanto, el resultado neto de la oxidación del NADH sería la producción de 2,5 moléculas de ATP (aunque tradicionalmente se había estimado que era de 3). La oxidación del $FADH_2$ procedente del succinato o de las demás reacciones que se canalizan a través del complejo II origina sólo 1,5 moléculas de ATP (antes, 2).

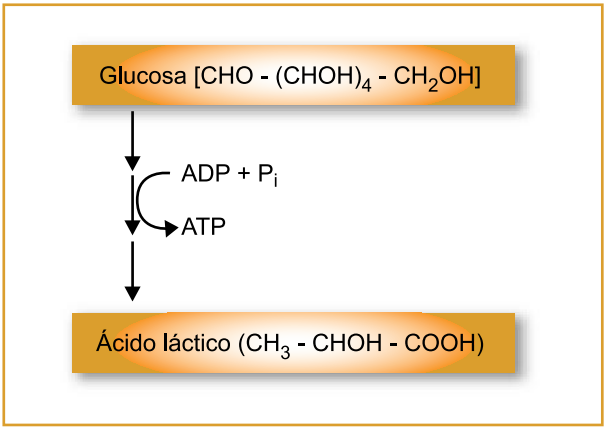


Figura 9. *Fosforilación a nivel de sustrato (fermentación).*

3.1.3. Fosforilación a nivel de sustrato

Un mecanismo menos importante para obtener ATP es la fosforilación a nivel de sustrato, proceso que no necesita oxígeno y que generalmente se asocia a la fermentación. En el organismo humano, la fermentación consiste en la formación de ácido láctico a partir de glucosa. En este caso, hay una óxido-reducción interna, de modo que los productos de la fermentación están globalmente al mismo nivel de reducción que el nutriente del que proceden, por lo que conservan todavía un gran potencial energético. Así, en la fermentación láctica, característica del trabajo muscular exhaustivo, el producto final, ácido láctico, tiene un carbono al mismo nivel de reducción que la mayoría de los carbonos de la glucosa inicial (-CHOH-), mientras que el carbono carboxílico está más oxidado y el carbono metílico está más reducido **(Figura 9)**.

Como se ha mencionado anteriormente (*ver apartado 3.1.1*), la producción de energía durante este proceso se lleva a cabo mediante la formación de intermediarios con enlaces ricos en energía de hidrólisis: el 1,3 bis-fosfoglicerato y el fosfoenol-piruvato. En ambos casos, su hidrólisis está acoplada a la síntesis de ATP. Por eso se habla de fosforilación "a nivel de sustrato".

La fermentación extrae mucha menos energía de los nutrientes que la respiración. En términos cuantitativos, la glucosa produce aproximadamente quince veces más ATP por fosforilación oxidativa que por fosforilación a nivel de sustrato. La ventaja de este último proceso es que no depende del oxígeno y que es muy rápido. De ahí, su adecuación a la contracción muscular en el trabajo anaerobio, ya comentada. Por otra parte, conviene resaltar que el producto final de la fermentación, el ácido láctico, puede ser aprovechado todavía por vía energética, aunque en otros tejidos: directamente (como ocurre en el músculo cardiaco) o tras su conversión en glucosa por el hígado.

3.1.4. Almacenamiento de energía

Como se ha indicado anteriormente, el ATP es directamente utilizable para las necesidades del organismo: generación de impulsos nerviosos, trabajo muscular, transporte a través de membrana, biosíntesis de macromoléculas, etc. Este compuesto energético no se almacena, sino que tiene que formarse al mismo tiempo que se utiliza. Sin embargo, en algunos tejidos, especialmente en el tejido muscular, donde los requerimientos energéticos pueden ser muy grandes en un momento determinado, existe la posibilidad de almacenar una sustancia que se transforma muy fácilmente en ATP y viceversa: el **creatín-fosfato** **(Figura 10)**.

Este compuesto es la forma fosforilada de la creatina, una molécula nitrogenada que deriva de los aminoácidos arginina, glicina y metionina (*ver Capítulo 1.14*). Los niveles de energía que se necesitan para fosforilar la creatina son un poco superiores a los que se necesitan para sintetizar ATP. Por ello, sólo se podrá sintetizar creatín-fosfato si existe una gran cantidad disponible de ATP, de acuerdo con las condiciones fisiológicas ("plétora energética").

En cambio, la degradación del creatín-fosfato se producirá en cuanto las circunstancias sean inver-

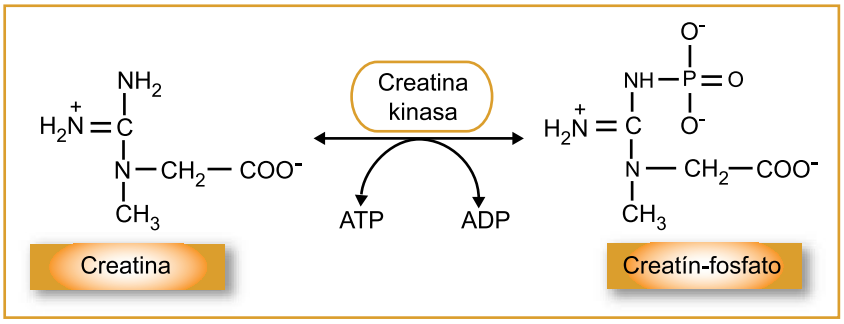


Figura 10. *Formación reversible de creatín-fosfato a partir de creatina y de ATP.*

sas (necesidad de energía). Por ello, una cierta cantidad de la energía del ATP puede almacenarse en las células mediante la formación de creatín-fosfato. La hidrólisis posterior de este compuesto origina una cantidad limitada de ATP de rápida utilización (*ver Capítulo 3.15*). Con esta excepción, la imposibilidad de almacenar ATP obliga a su obtención inmediata a partir de los nutrientes energéticos circulantes y de los depósitos de glucógeno o triglicéridos.

Desde el punto de vista energético, el almacenamiento de triglicéridos es mucho más favorable que el de hidratos de carbono. Como se ha comentado anteriormente, las grasas son más ricas en hidrógeno, por lo que generan proporcionalmente mucha más energía que los hidratos de carbono. Por otra parte, el glucógeno es una macromolécula muy ramificada que ocupa mucho espacio celular y que, además, al contrario de lo que ocurre con los triglicéridos, se acompaña de una gran cantidad de agua. El glucógeno es fundamental, sin embargo, porque se hidroliza a glucosa de forma muy rápida, lo que facilita el mantenimiento de la glucemia en los periodos interdigestivos.

3.2. Metabolismo intermediario

El metabolismo, como ya se ha indicado, incluye el anabolismo y el catabolismo. Se denominan vías o rutas catabólicas a las series de reacciones por las que las grandes moléculas se degradan en moléculas más sencillas, con generación directa o indirecta de energía. Las vías o rutas anabólicas son los procesos de síntesis de macromoléculas a partir de dichas moléculas simples y requieren aporte energético. Ciertas vías metabólicas pueden considerarse tanto degradativas como biosintéticas por lo que reciben el nombre de anfibólicas.

3.2.1. Fases del metabolismo intermediario

Es muy útil considerar tres grandes fases en las rutas centrales del metabolismo intermediario **(Figura 11)**.

Fase I. Relaciona las macromoléculas (proteínas, polisacáridos y triglicéridos) con las moléculas simples correspondientes (aminoácidos, hexosas, ácidos grasos y glicerol).

La obtención de moléculas simples a partir de macromoléculas se realiza a nivel digestivo para posibilitar la absorción de azúcares, aminoácidos, y ácidos grasos y glicerol. En los demás territorios del organismo, estos procesos tienen un significado diferente. La síntesis de triglicéridos (hígado y tejido adiposo) y glucógeno (hígado y músculo) se produce con fines de almacenamiento de energía.

Posteriormente, esta energía podrá utilizarse por los distintos tejidos tras los procesos hidrolíticos correspondientes y la formación de nuevo de glucosa, ácidos grasos y glicerol. Es interesante destacar que la formación de las macromoléculas a partir de las moléculas simples necesita el aporte energético del ATP. En cambio, el proceso contrario no produce energía, aunque posibilite su extracción posterior.

En cuanto a las interconversiones aminoácidos-proteínas, se trata de un proceso muy diferente, en el que no existen en principio connotaciones energéticas. La síntesis de proteínas a partir de aminoácidos se produce en todos los tejidos de manera continua, lo mismo que el proceso proteolítico inverso para garantizar el buen funcionamiento del organismo (*ver Capítulo 1.6*). Conviene añadir, sin embargo, que durante el ayuno se produce una importante proteólisis muscular con fines gluconeogénicos (*ver más adelante*).

Fase II. Relaciona estas moléculas simples con el acetil-CoA.

Los ácidos grasos se utilizan en algunos tejidos (especialmente hígado y tejido muscular) con fines energéticos. La degradación de los ácidos grasos produce NADH, $FADH_2$ y acetil-CoA (*ver*

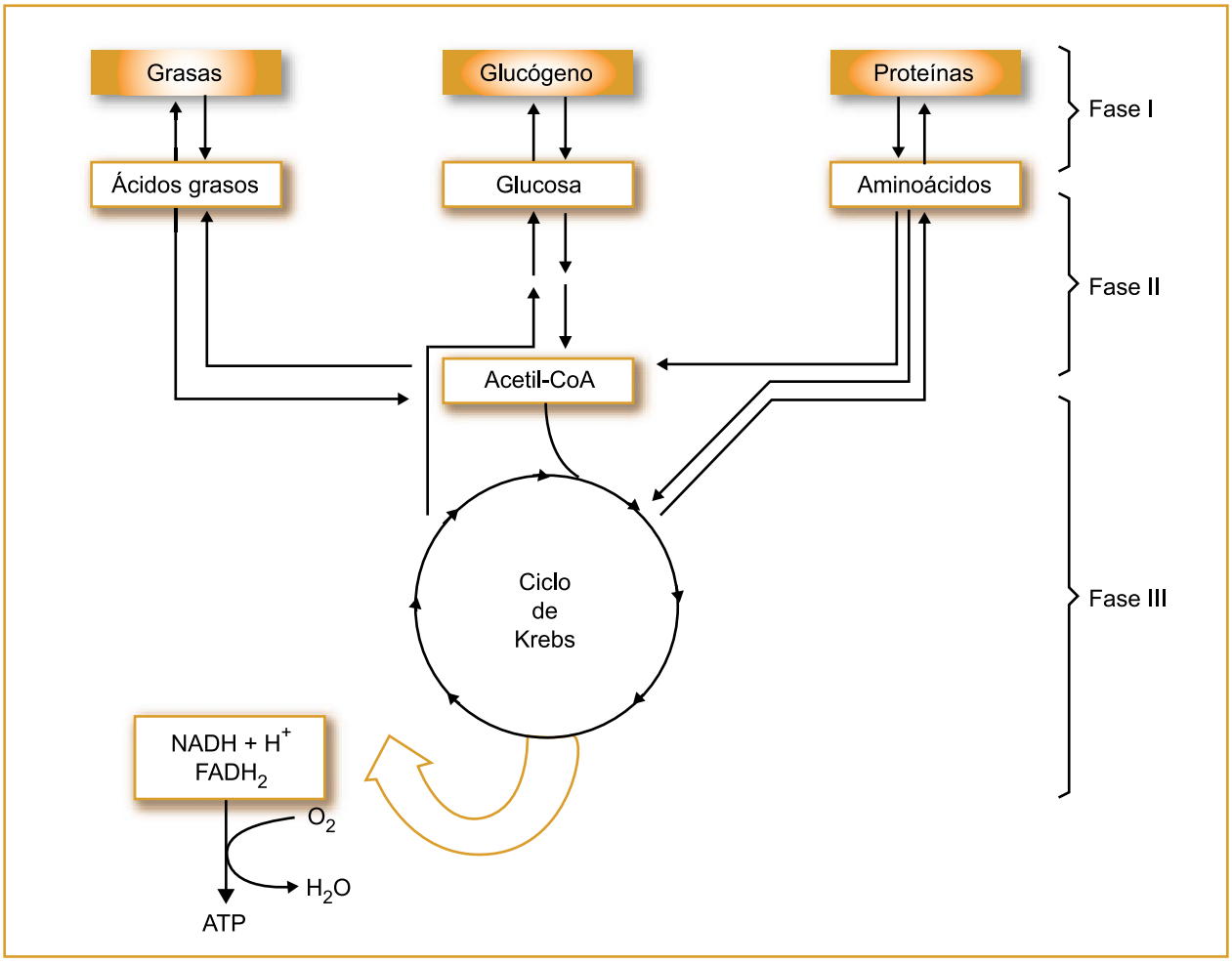


Figura 11. *Las tres grandes fases del metabolismo.*

Capítulo 1.12). Los coenzimas reducidos pueden utilizarse directamente en las cadenas de transporte electrónico, mientras que el acetil-CoA necesita su metabolización posterior en la Fase III, que se detallará más adelante.

La glucosa se utiliza en todos los tejidos como fuente energética principal. En la mayor parte de los casos, la metabolización de la glucosa transcurre por la vía glucolítica, con producción de NADH y acetil-CoA, que se metabolizará posteriormente en la Fase III. Sin embargo, en algunos tejidos (eritrocitos, cristalino, médula renal y, especialmente, músculo esquelético en condiciones de ejercicio exhaustivo y, por tanto, de hipoxia) la glucólisis se realiza hasta lactato, obteniéndose una cierta cantidad de ATP por fosforilación a nivel de sustrato.

La utilización catabólica de los aminoácidos sólo se produce en determinadas circunstancias fisiológicas, tales como el ayuno. Existen muchas vías metabólicas distintas para esta metabolización dada la diversidad estructural de los 20 aminoácidos que constituyen las proteínas. Algunas de estas vías conducen al acetil-CoA, como en los casos anteriores; en otros casos, el catabolismo de los aminoácidos origina metabolitos de la glucólisis o del ciclo de Krebs.

Mientras que las vías catabólicas de la fase II tienen un punto de convergencia que es la formación de acetil-CoA, las vías anabólicas correspondientes muestran más diferencias. De hecho, sólo la biosíntesis de los ácidos grasos se realiza a partir de dicho acetil-CoA. Para los otros casos se puede establecer de manera simplificada que los precursores para la síntesis de glucosa y aminoácidos son el piruvato (procedente de la glucólisis) y algunos metabolitos del ciclo de Krebs (α-cetoglutarato y oxalacetato).

Aunque en el esquema representado en la **Figura 11**, las vías catabólicas y anabólicas transcurren de forma paralela, esto es sólo una aproximación didáctica. En realidad, es cierto que algunas reacciones son reversibles y pueden funcionar en ambos sentidos. Sin embargo, la mayoría de las etapas de las vías catabólicas y anabólicas están catalizadas por enzimas distintas. Incluso, en algunos casos transcurren en territorios celulares diferentes, como se comentará más adelante. Todo ello permite una mejor regulación fisiológica.

Fase III. Está constituida por el metabolismo oxidativo del acetil-CoA, es decir, el ciclo tricarboxílico (ciclo de Krebs), cadena respiratoria y fosforilación oxidativa. Desde el punto de vista catabólico, esta fase puede considerarse como la vía final común del aprovechamiento energético de todos los nutrientes. Se trata, en principio, de una vía exclusivamente catabólica e irreversible. Sin embargo, como se verá más adelante, algunos componentes del ciclo tricarboxílico se utilizan en las etapas iniciales de la biosíntesis de glucosa, aminoácidos o ácidos grasos. Por eso, esas etapas se consideran rutas anfibólicas.

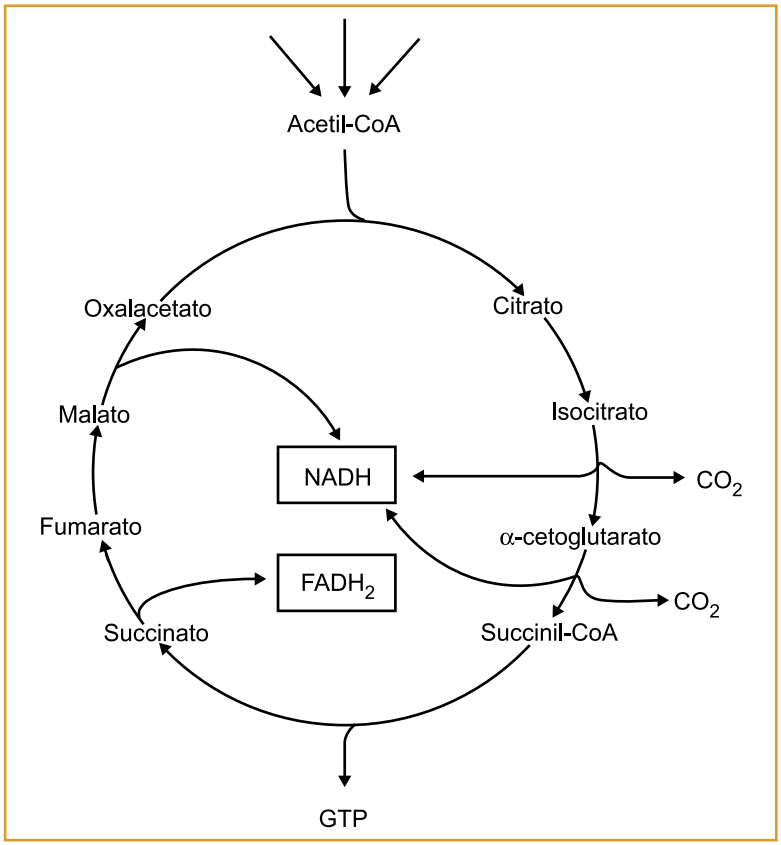


Figura 12. *Ciclo de Krebs (ciclo de los ácidos tricarboxílicos).*

3.2.2. *Ciclo tricarboxílico (ciclo de Krebs)*

El ciclo de Krebs está constituido por ocho etapas enzimáticas, algunas de ellas muy complejas, que transcurren en la matriz mitocondrial (con la excepción de la reacción catalizada por la succinato deshidrogenasa, que se produce en la propia membrana interna mitocondrial, junto a las cadenas de transporte electrónico) **(Figura 12)**.

Si se considerara un ciclo cerrado, sin entradas ni salidas de intermediarios, podría resumirse su funcionamiento como la combustión del resto acetilo del acetil-CoA, con producción de dos moléculas de dióxido de carbono y varios coenzimas reducidos (también se produce GTP, que es equivalente y, por tanto, intercambiable con el ATP).

a) Primera fase del ciclo de Krebs. Síntesis e isomerización del citrato. La primera reacción del ciclo tricarboxílico consiste en la condensación de una molécula de acetil-CoA con una molécula de oxalacetato para formar citrato. Posteriormente, el citrato se isomeriza a isocitrato **(Figura 13)**.

La primera reacción está catalizada por la enzima citrato sintasa. No se requiere aporte energético porque el acetil-CoA se hidroliza durante la reacción, proporcionando la energía necesaria. Como se ha comentado anteriormente (*ver apartado 3.1.1*), todos los acil-CoA contienen un enlace rico en energía de hidrólisis (un tioéster), cuya formación necesitó con anterioridad el correspondiente aporte energético. La reacción siguiente consiste en la isomerización del citrato a isocitrato mediante la acción catalítica de la aconitasa. Esta enzima deriva su nombre del *cis*-aconitato, un intermediario de la reacción.

El citrato y el isocitrato tienen tres grupos carboxílicos, lo que justifica la denominación de "ciclo tricarboxílico" (en realidad, ciclo de los ácidos tricarboxílicos).

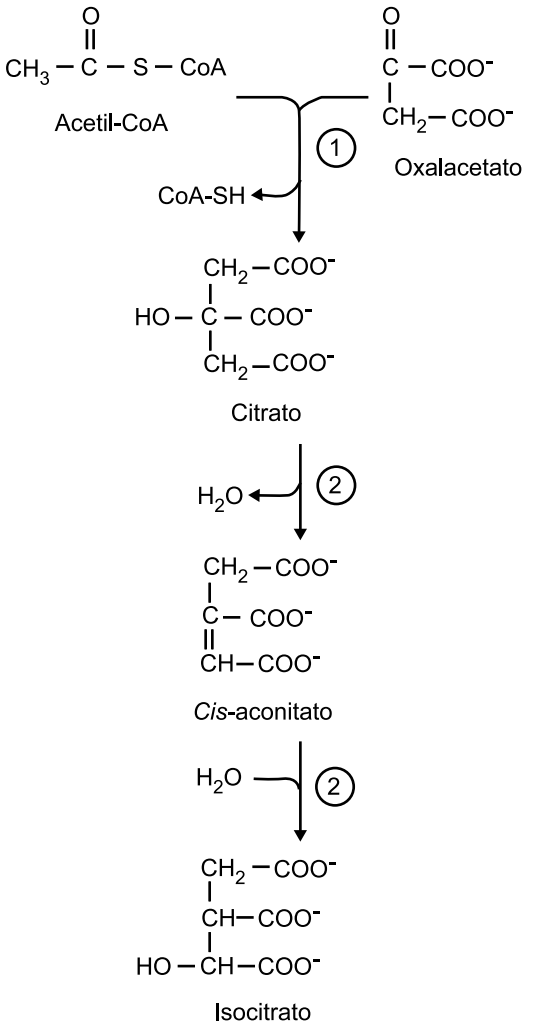


Figura 13. *Síntesis e isomerización del citrato. 1: citrato sintasa; 2: aconitasa.*

b) Segunda fase del ciclo de Krebs. Descarboxilaciones oxidativas. En esta segunda fase del ciclo de Krebs se producen sendas descarboxilaciones oxidativas con producción de coenzimas reducidos **(Figura 14)**.

En la primera reacción de esta fase tiene lugar la conversión del isocitrato en α-cetoglutarato catalizada por la isocitrato deshidrogenasa. Se produce la oxidación del resto hidroxilo a carbonilo con generación de coenzima reducido. Como consecuencia de la creación del grupo carbonilo, el restante carboxilo situado en posición β se pierde como dióxido de carbono.

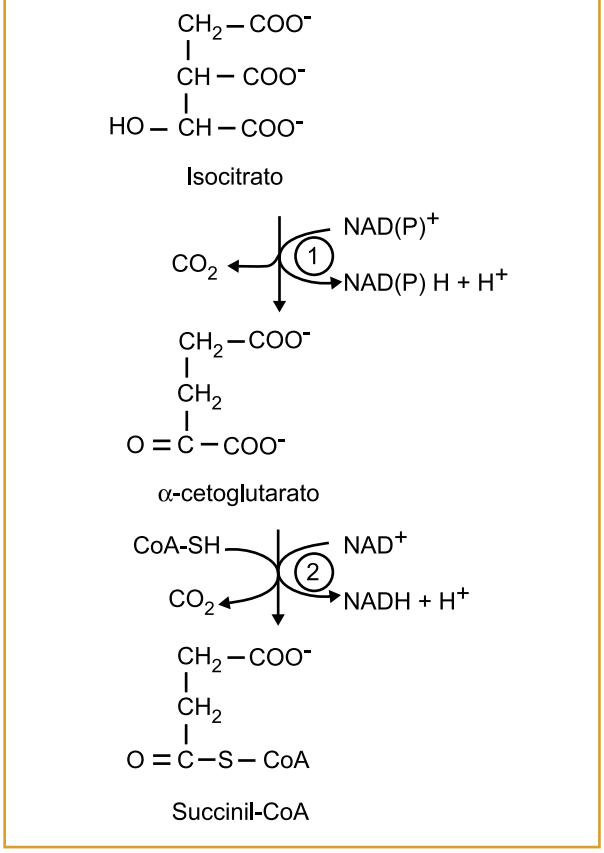


Figura 14. *Descarboxilaciones oxidativas en el ciclo de Krebs. 1: isocitrato deshidrogenasa; 2: α-cetoglutarato deshidrogenasa.*

Existen dos formas isoenzimáticas de la isocitrato deshidrogenasa *(ver Capítulo 1.3)*: isoenzimas son enzimas con actividad semejante pero de distinta naturaleza proteica). Una de ellas colabora con el NAD (produciendo NADH) y otra colabora con el NADP (produciendo NADPH). Como se detallará en los Capítulos 1.9 y 1.12, el NADPH se utiliza fundamentalmente en misiones biosintéticas y no es una fuente de electrones en las cadenas respiratorias, por lo que la existencia de esta isoenzima en el ciclo de Krebs es un tanto sorprendente. Parece que esta isoenzima mantiene la actividad basal del ciclo con independencia de las circunstancias fisiológicas. En cambio, la otra isoenzima, que genera NADH para las cadenas mitocondriales de transporte electrónico, se activa de acuerdo con las necesidades energéticas (*ver más adelante*).

La descarboxilación oxidativa del α-cetoglutarato es mucho más compleja. Se trata de una reac-

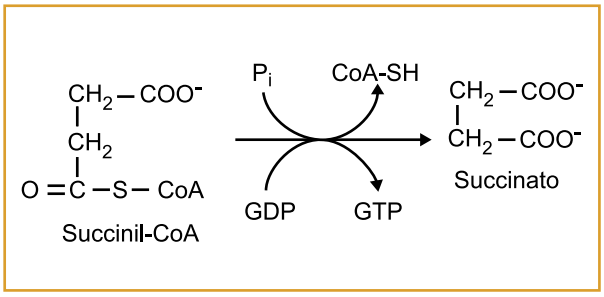


Figura 15. *Formación de succinato por la acción de la enzima succinato tiokinasa.*

ción en la que intervienen varios coenzimas, algunos ya mencionados, como NAD, FAD y coenzima A, y otros aún no descritos, como el ácido lipoico y el pirofosfato de tiamina. El proceso es idéntico al que tiene lugar para convertir el piruvato en acetil-CoA, que será detallado en el Capítulo 1.21. La oxidación del α-cetoglutarato produce finalmente succinil-CoA y NADH.

c) Tercera fase del ciclo de Krebs. Fosforilación a nivel de sustrato. En esta fase se produce la conversión del succinil-CoA en succinato. Al tratarse de un acil-CoA, la hidrólisis del enlace tioéster produce energía, que se aprovecha por fosforilación a nivel de sustrato mediante la síntesis de GTP. La reacción está catalizada por la succinato tiokinasa **(Figura 15)**.

Posteriormente, el GTP genera ATP mediante una reacción de intercambio catalizada por la nucleótido difosfato kinasa:

GTP + ADP = GDP + ATP

d) Cuarta fase del ciclo de Krebs. Oxidación del succinato y regeneración del oxalacetato. En esta fase se producen dos reacciones de óxido-reducción que producen $FADH_2$ y NADH, separadas por una reacción de hidratación **(Figura 16)**.

La primera de estas reacciones transforma el succinato en fumarato con producción de $FADH_2$. La enzima responsable de catalizar este proceso (succinato deshidrogenasa) se diferencia de las demás enzimas del ciclo por su localización en la membrana interna mitocondrial, mientras que las otras se encuentran en la matriz. De hecho, la succinato deshidrogenasa forma parte del complejo II de la cadena respiratoria, por lo que el $FADH_2$ cede sus electrones a nivel del coenzima Q (*ver apartado 3.1.2*).

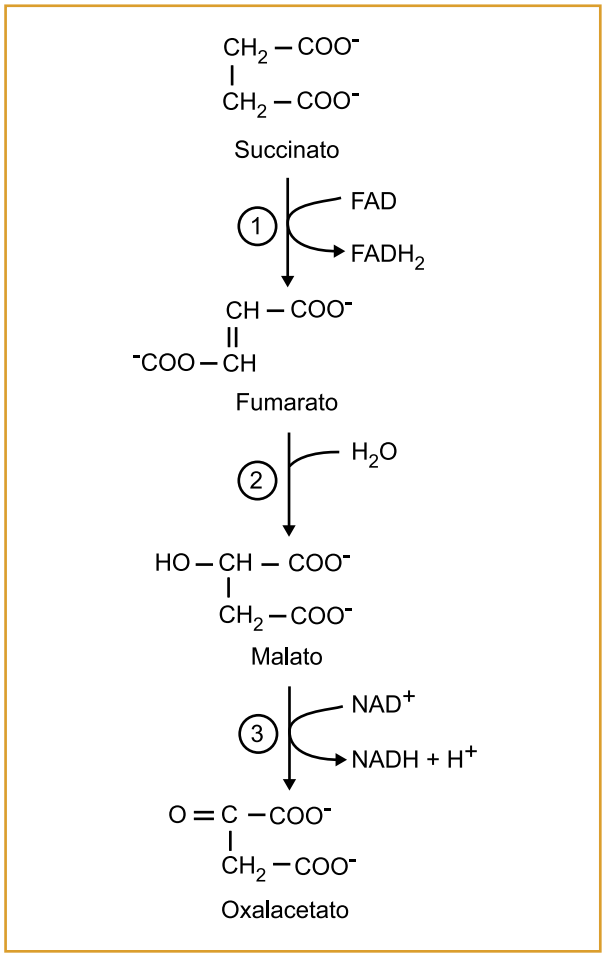


Figura 16. *Oxidación del succinato y recuperación del oxalacetato. 1: succinato deshidrogenasa; 2: fumarasa; 3: malato deshidrogenasa.*

La reacción siguiente, catalizada por la enzima fumarasa, consiste en la hidratación del fumarato para originar malato. Posteriormente, el malato se oxida a oxalacetato, en reacción catalizada por la malato deshidrogenasa, con producción de NADH. De esta forma se regenera el oxalacetato y puede volver a funcionar el ciclo.

e) Rendimiento energético del ciclo de Krebs. Como se acaba de describir, una vuelta completa del ciclo de Krebs genera tres moléculas de NADH, una de $FADH_2$ y un GTP. Se puede concluir, por tanto, de forma aproximada, que se producen 10 moléculas de ATP. En efecto, cada molécula de NADH genera 2,5 de ATP y el $FADH_2$ genera 1,5 (*ver apartado 3.1.2*), mientras que el GTP equivale a una molécula de ATP.

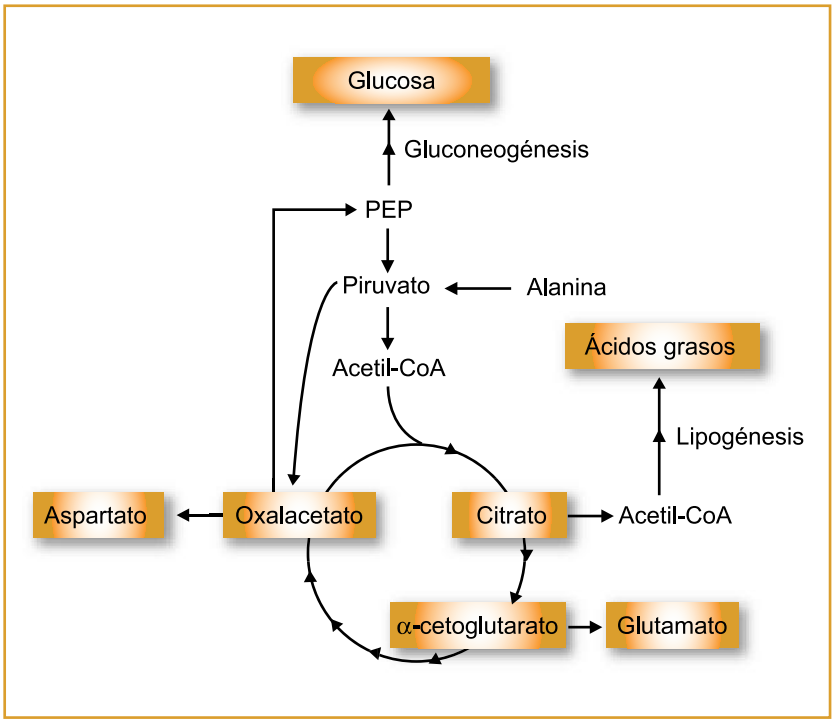


Figura 17. *Algunas vías anfibólicas del ciclo de Krebs. PEP: fosfoenolpiruvato.*

f) Regulación del ciclo de Krebs. El funcionamiento del ciclo de Krebs está controlado fundamentalmente por el estado energético de la célula, como era lógico esperar, dado su carácter de "turbina metabólica". Cuando la célula se encuentra en condiciones de plenitud energética, los niveles de ATP son altos mientras que los de ADP son bajos. Por el contrario, la escasez energética se caracteriza por altos niveles de ADP y baja cantidad de ATP. Por otra parte, dada la estrecha relación entre el funcionamiento de las cadenas de transporte electrónico y la fosforilación oxidativa, los niveles de los coenzimas reducidos se corresponden con las concentraciones de ATP. Se puede concluir, por tanto, que el funcionamiento del ciclo será tanto mayor cuanto menos ATP y más ADP existan en la célula.

Los puntos concretos de control son las etapas enzimáticas catalizadas por la isocitrato deshidrogenasa y por la α-cetoglutarato deshidrogenasa. Se trata de dos enzimas cuya actividad se regula por las señales celulares que se acaban de mencionar. La isocitrato deshidrogenasa ligada al NAD es activada por ADP e inhibida por ATP y NADH. La α-cetoglutarato deshidrogenasa también es inhibida por ATP y NADH, así como por su producto, el succinil-CoA. En el músculo esquelético, ambas enzimas son activadas, además, por los aumentos de las concentraciones intramitocondriales de iones calcio que acompañan al estímulo eléctrico de la actividad muscular.

g) Aspectos anfibólicos del ciclo de Krebs. La estructura "cerrada" del ciclo de Krebs que se acaba de describir no se corresponde exactamente con la realidad en nuestras células. Algunos de sus intermediarios pueden provenir de otros orígenes, especialmente de aminoácidos (*ver Capítulo 1.14*). Por otra parte, en otros casos, dichos intermediarios también pueden "escapar" del ciclo con fines biosintéticos. Así, el oxalacetato se utiliza en la gluconeogénesis como sustrato de la fosfoenolpiruvato carboxikinasa (*ver Capítulo 1.9*), mientras que el citrato sale de la mitocondria para convertirse en acetil-CoA y dar origen a los ácidos grasos (*ver Capítulo 1.12*). Por otra parte, el oxalacetato y el α-cetoglutarato pueden originar aspartato y glutamato por transaminación y pueden incorporarse posteriormente a las proteínas (*ver Capítulo 1.14*). Algunas de estas vías anfibólicas se muestran esquemáticamente en la **Figura 17**.

3.2.3. Papel de las vitaminas y los minerales en el metabolismo

Las grandes rutas metabólicas indicadas en la **Figura 11** están compuestas por múltiples reacciones, estando la práctica totalidad de las mismas catalizadas por enzimas, muchas de las cuales requieren el concurso de uno o varios coenzimas. La mayoría de estos coenzimas son derivados de algunas vitaminas (*ver Capítulo 1.21*). Por ello, para un correcto funcionamiento del metabolismo hacen falta niveles adecuados de dichas vitaminas. Las deficiencias en su aporte afectarán, por tanto, a las etapas en las que intervienen, produciendo altera-

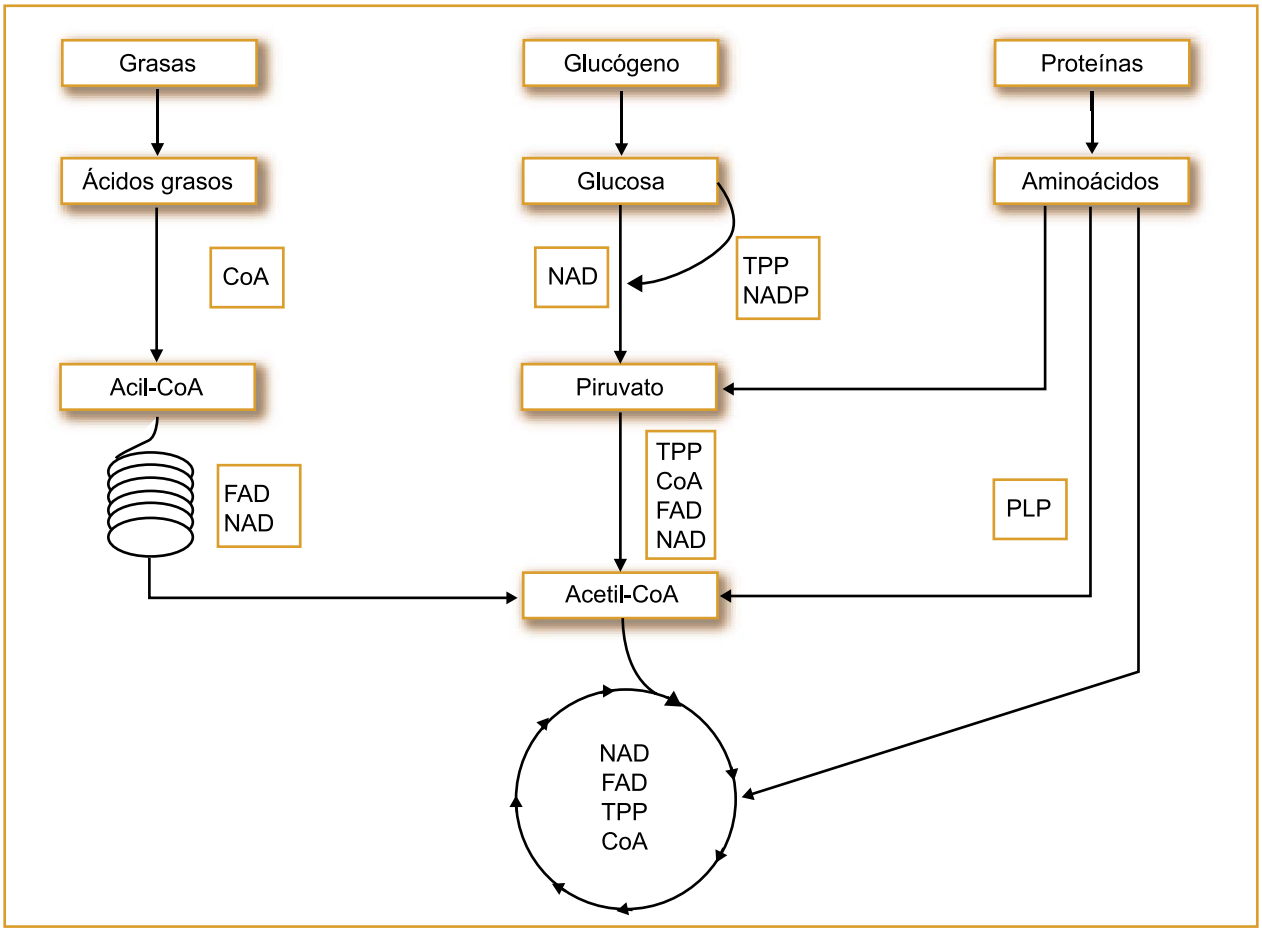


Figura 18. *Algunas vías metabólicas en las que intervienen coenzimas derivados de vitaminas. CoA: coenzima A; FAD: flavín-adenín dinucleótido; NAD: nicotín-adenín dinucleótido; PLP: piridoxal-fosfato; TPP: tiamina pirofosfato.*

ciones bioquímicas que pueden llegar a conducir en los casos más acusados a las alteraciones patológicas correspondientes. Por ejemplo, el pirofosfato de tiamina es un coenzima derivado de la vitamina B_1 que interviene en la reacción catalizada por la piruvato deshidrogenasa. Esta reacción consiste en el paso de piruvato a acetil-CoA y constituye una etapa decisiva en la utilización oxidativa de la glucosa (*ver Capítulo 1.9*). Dada la importancia de la glucosa como sustrato metabólico de las neuronas, la deficiencia de tiamina afecta al sistema nervioso originando el cuadro clínico del beri-beri. A título indicativo, en la **Figura 18** se señalan algunas formas coenzimáticas de varias vitaminas que intervienen en las rutas catabólicas centrales. Algunos elementos minerales forman parte de la constitución de enzimas o intervienen como cofactores en sus funciones catalíticas. Así, por ejemplo, el cobre forma parte de numerosas enzimas, entre las que cabe destacar la citocromo oxidasa, que cataliza la última etapa en la cadena respiratoria (*ver apartado 3.1.2*). Por otra parte, el magnesio se utiliza como cofactor en las reacciones catalizadas por las kinasas, como la hexokinasa, que interviene en la formación de glucosa-6-fosfato a partir de glucosa, iniciando así su metabolización en los tejidos periféricos (*ver Capítulo 1.9*). Al igual que en el caso de las vitaminas, las deficiencias en alguno de estos minerales puede llevar consigo las perturbaciones metabólicas correspondientes. Así, la falta de cobre puede originar trastornos nerviosos por la ineficacia de la citocromo oxidasa, dada la trascendencia del metabolismo oxidativo en las neuronas.

Los alimentos muy refinados carecen prácticamente de vitaminas y minerales, por lo que sus macronutrientes originan únicamente calorías ("calo-

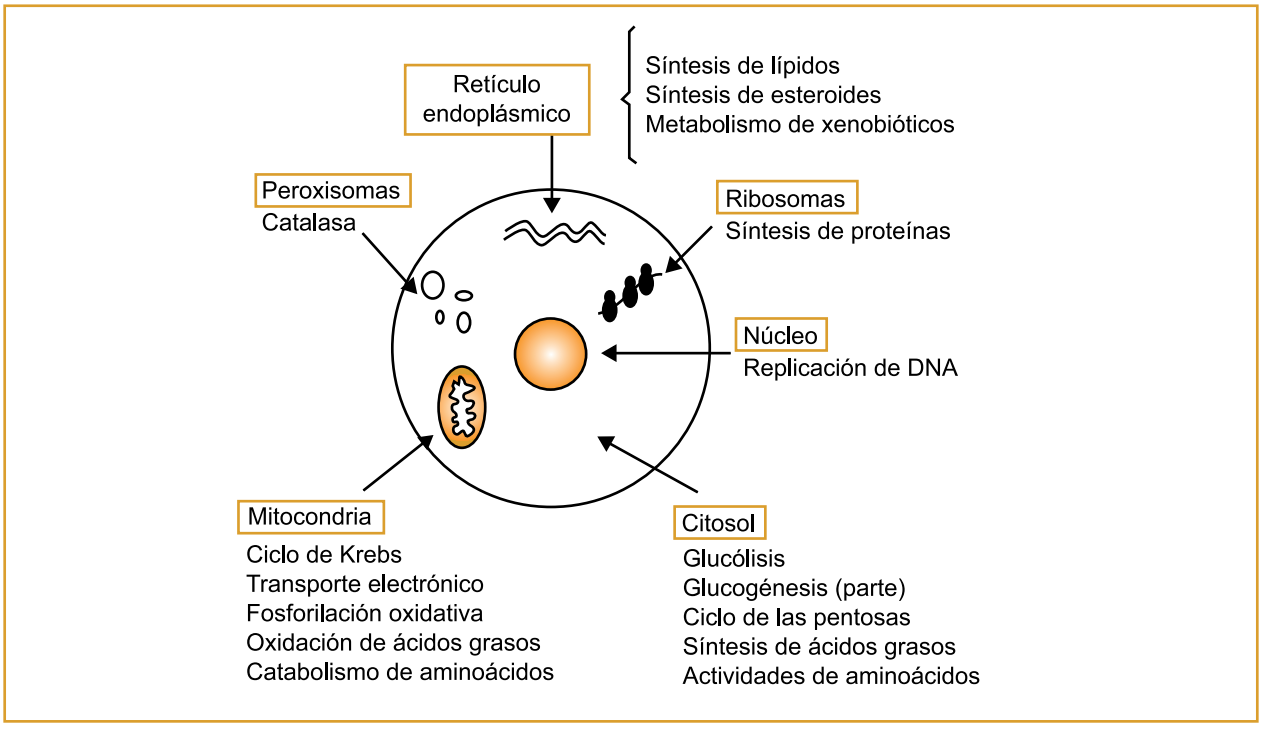


Figura 19. *Localización intracelular de algunas enzimas y procesos metabólicos.*

rías vacías"). El abuso de este tipo de alimentos (grasas, aceites, pan blanco, azúcar, alcohol, etc.) puede, por tanto, originar deficiencias vitamínicas y minerales, y repercutir de forma muy negativa en el metabolismo.

3.2.4. Compartimentación celular

Los procesos metabólicos se localizan en diferentes compartimentos celulares. Así, la glucólisis se desarrolla en el citosol y el ciclo tricarboxílico se produce en la mitocondria mientras que el ciclo de la urea utiliza ambos territorios. En la **Figura 19** se indica la localización celular de algunos de los principales procesos metabólicos. La compartimentación celular plantea problemas de transporte de metabolitos y coenzimas, y puede jugar un papel importante en la regulación de los correspondientes procesos. En algunos casos, los metabolitos pueden acceder a localizaciones celulares diferentes mediante transportadores específicos. Ya se ha descrito anteriormente (*ver apartado 3.1.2*) la existencia de transportadores para que el ATP pueda salir de la mitocondria y el ADP pueda penetrar en este orgánulo. Un sistema más complejo lo constituyen las denominadas "lanzaderas", que se utilizan cuando no existen transportadores adecuados. Las lanzaderas más características son las que transportan los equivalentes de reducción entre el citosol y la mitocondria.

Como se verá en el Capítulo 1.9, durante el transcurso de la glucólisis se generan equivalentes de reducción en forma de NADH en el citosol. Estos coenzimas reducidos no pueden acceder a las mitocondrias para su aprovechamiento oxidativo, porque la membrana interna mitocondrial es impermeable para dichas moléculas. Sin embargo, existe la posibilidad de utilizar el NADH para reducir a un metabolito capaz de atravesar la membrana mitocondrial. Una vez en el interior de este orgánulo, se procede a la regeneración de la forma oxidada del metabolito con producción intramitocondrial del coenzima reducido, que ya puede utilizarse en las cadenas de transporte electrónico. Por último, el metabolito oxidado vuelve al citosol para permitir el funcionamiento continuo de la lanzadera.

En la **Figura 20** se esquematizan dos sistemas de lanzadera para la utilización del NADH citosólico procedente de la glucólisis. El primero de ellos se denomina "lanzadera del glicerol-fosfato", que

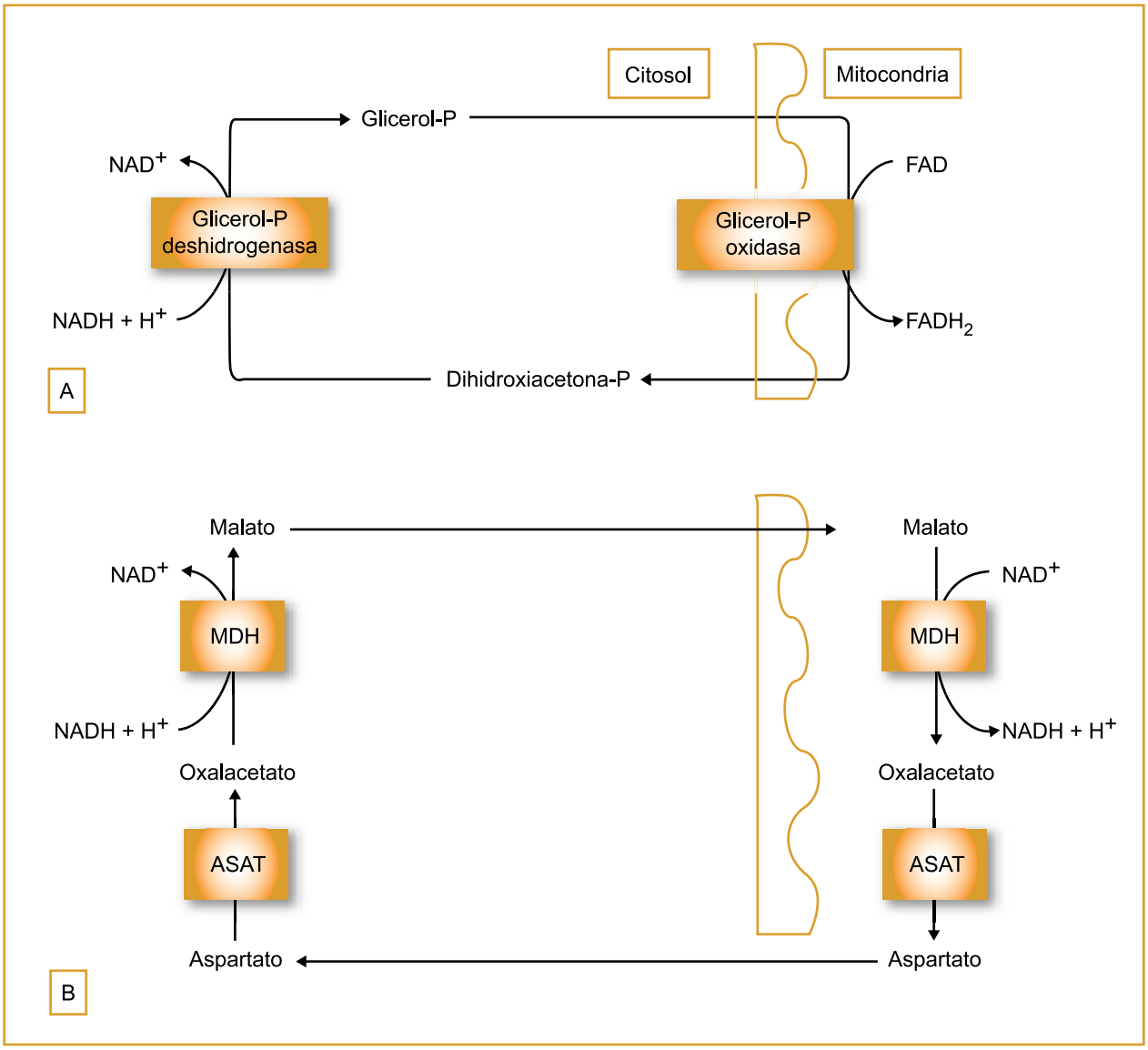


Figura 20. *Lanzaderas del glicerol-fosfato (A) y del malato-aspartato (B). MDH: malato-deshidrogenasa; ASAT: aspartato-aminotransferasa.*

es el nombre de uno de los metabolitos utilizados para atravesar la membrana mitocondrial. Como puede observarse, la oxidación intramitocondrial del glicerol-fosfato genera $FADH_2$. Esto supone una ligera pérdida de poder energético, puesto que este coenzima origina menos ATP que el NADH. Por otra parte, esta lanzadera es de carácter irreversible, lo que asegura el rendimiento energético del proceso.

La "lanzadera de malato-aspartato" es un poco más compleja. El NADH se utiliza para reducir el oxalacetato con producción de malato. Este metabolito penetra en la mitocondria y es oxidado a oxalacetato con producción de NADH. Sin embargo, la membrana interna mitocondrial es impermeable al oxalacetato, por lo que se necesitan unas reacciones adicionales de transaminación para convertir el oxalacetato en aspartato, compuesto que dispone de un transportador específico para atravesar la membrana.

En esta lanzadera no hay pérdida de poder energético. Por otra parte, es de carácter rever-

sible. Como se verá en el Capítulo 1.9, esta cualidad es interesante porque permite utilizar el poder reductor mitocondrial para el proceso gluconeogénico.

Existen otros mecanismos para atravesar la membrana mitocondrial, como se verá con detalle en el Capítulo 1.12. Así, los ácidos grasos de cadena larga entran en la mitocondria para su utilización oxidativa tras su conversión en derivados de la carnitina. Por otra parte, el acetil-CoA mitocondrial procedente del metabolismo glucídico debe salir al citosol para la biosíntesis de ácidos grasos (lipogénesis), pero la membrana mitocondrial es impermeable al acetil-CoA.

Para resolver este problema, y como ya se ha comentado (*ver apartado 3.2.1*), se utiliza la primera etapa enzimática del ciclo de Krebs, que origina citrato. Este compuesto tiene un transportador específico que le permite salir al citosol donde se produce su conversión posterior en acetil-CoA.

3.2.5. Compartimentación tisular

La mayor parte de las células del organismo son capaces de realizar las principales vías metabólicas, pero existen generalmente diferencias cuantitativas en el funcionamiento de las mismas. Así, por ejemplo, la síntesis de colesterol es mucho más importante en el hígado que en los demás tejidos. Además, hay células que carecen del equipamiento enzimático necesario para llevar a cabo determinados procesos catabólicos o biosintéticos. El ejemplo más característico lo constituyen los eritrocitos, en los que no se da el ciclo tricarboxílico por carecer de mitocondrias.

Un corolario importante de las diferentes capacidades metabólicas de los tejidos es la existencia de intercambios tisulares de nutrientes y metabolitos. Los principales órganos y tejidos implicados en estas interrelaciones son el hígado, el músculo, el cerebro, el tejido adiposo y los eritrocitos.

El hígado tiene un papel fundamental en el mantenimiento de la glucemia. Puede almacenar glucosa como glucógeno y puede sintetizarla por gluconeogénesis. De esta forma, garantiza niveles de glucosa adecuados para su utilización para los tejidos glucodependientes, especialmente el cerebro. Es interesante destacar, sin embargo, que la gluconeogénesis se produce durante el ayuno a partir de aminoácidos musculares, lo que lleva consigo la destrucción de las correspondientes proteínas.

También es importante el hígado en el metabolismo lipídico. Por una parte, juega un papel principal en la síntesis y en la utilización de las diferentes lipoproteínas sanguíneas. Por otra parte, es el responsable de la síntesis de los compuestos cetónicos a partir de los ácidos grasos. Los compuestos cetónicos son cruciales para el metabolismo cerebral durante el ayuno prolongado. Sin embargo, su producción excesiva, como ocurre en la diabetes descompensada, se acompaña de alteraciones patológicas severas.

El hígado es la sede principal del metabolismo de los aminoácidos, de su utilización energética o gluconeogénica y de la desintoxicación del amoniaco producido en estas reacciones mediante la formación de urea. También es el órgano en el que se sintetizan los principales derivados nitrogenados de los aminoácidos.

Resulta evidente que el hígado funciona como una "estación intermedia" que regula el aporte de los diferentes nutrientes a los demás tejidos de acuerdo con la composición de la dieta y las demás circunstancias fisiológicas. Sin embargo, los tejidos extrahepáticos no funcionan como meros receptores de dichos nutrientes, sino que envían a su vez al hígado y a otros tejidos determinados productos de su metabolismo. Como se acaba de describir, el músculo contribuye a la gluconeogénesis hepática mediante la degradación de sus propias proteínas, mientras que el tejido adiposo permite la cetogénesis hepática a través de la degradación de los triglicéridos previamente almacenados.

Al contrario de lo que sucede en los tejidos ya mencionados, el cerebro no dispone de cantidades significativas de reserva energética, por lo que necesita el aporte continuo de glucosa. Este aporte puede disminuir, en parte, durante el ayuno prolongado, porque en estas condiciones se utilizan también los compuestos cetónicos. El metabolismo energético cerebral es cuantitativamente importante y siempre de tipo oxidativo aerobio.

Como se ha descrito con anterioridad, los eritrocitos no tienen mitocondrias, por lo que su metabolismo es exclusivamente glucolítico anaerobio. Por ello, producen continuamente lactato. Este metabolito puede ser utilizado por otros tejidos, especialmente el hígado y el músculo car-

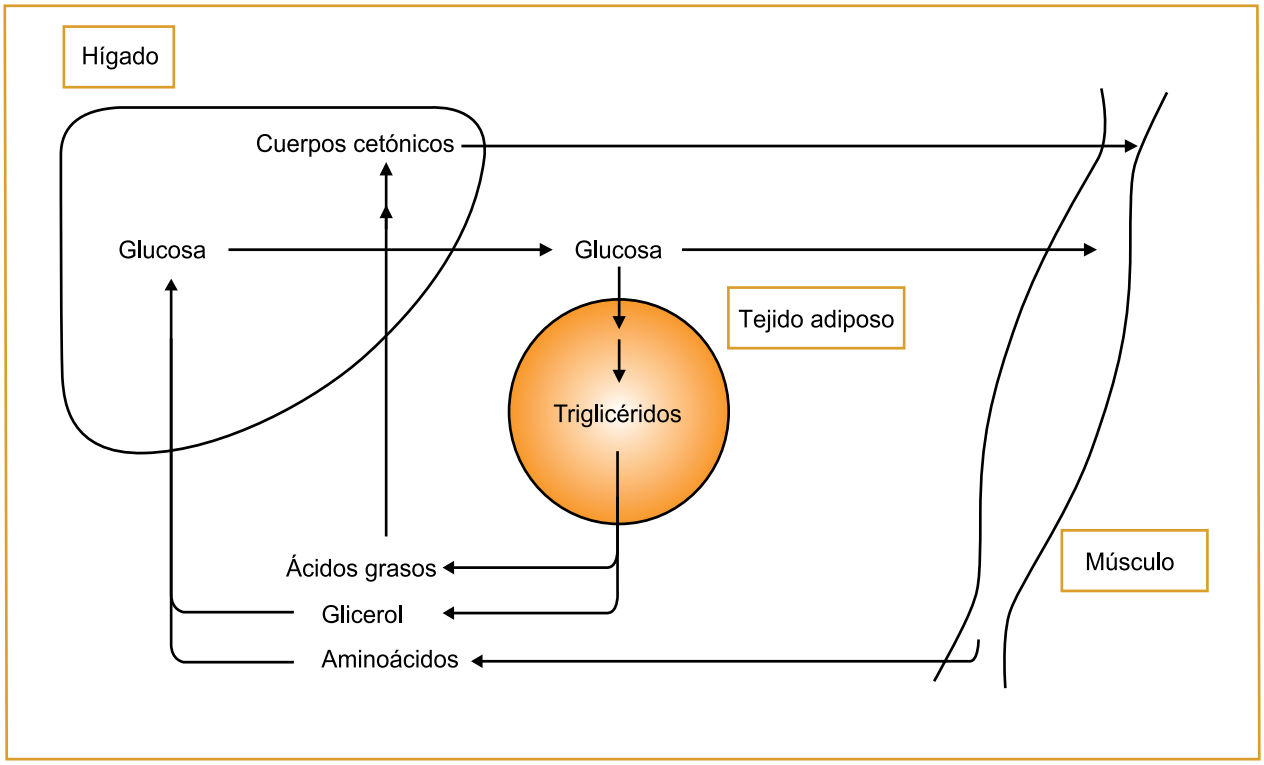


Figura 21. *Algunas interrelaciones metabólicas entre hígado, músculo y tejido adiposo.*

diaco. Las relaciones metabólicas entre los tejidos son muy complejas y varían con el estado fisiológico, tipos de dieta o circunstancias patológicas. En la **Figura 21** se señalan algunas de estas interrelaciones, que se desarrollarán en posteriores capítulos.

4. Resumen

- Los macronutrientes (hidratos de carbono, lípidos y proteínas) son utilizados en el organismo como fuentes de energía y como componentes estructurales. Algunos elementos minerales tienen función estructural y muchos de ellos desempeñan también funciones reguladoras. La mayoría de las vitaminas tienen derivados coenzimáticos necesarios para la actividad metabólica, aunque dos de ellas, las vitaminas A y D, modulan directamente la expresión génica.

- El organismo humano no es capaz de sintetizar toda la amplia gama de compuestos químicos necesarios para su funcionamiento normal, por lo que algunos de estos compuestos deben ser aportados por la dieta y son denominados nutrientes esenciales. En este grupo se incluyen a las vitaminas, algunos ácidos grasos y algunos aminoácidos. Se consideran compuestos semiesenciales, o condicionalmente esenciales, aquellos que pueden ser sintetizados por el organismo, pero en cantidades insuficientes en determinados estados de requerimientos aumentados (purinas y algunos aminoácidos).

- El organismo dispone de mecanismos que regulan el balance energético, de manera que si la ingesta supera al gasto, se produce un almacenamiento de glucógeno y triglicéridos. De manera inversa, estos depósitos pueden ser utilizados como fuente de energía en condiciones de aporte inferior al gasto. Es importante señalar, sin embargo, que aunque la composición corporal permanezca constante (ingesta igual a gasto), ello no significa que las partes constituyentes permanezcan estáticas. Por el contrario, la mayoría de los sustratos metabólicos están siendo continuamente utilizados y reemplazados (recambio o *turnover* metabólico).

- La obtención de energía a partir de los nutrientes se puede realizar con el concurso del oxígeno (fosforilación oxidativa) o en su ausencia (fosforilación a nivel de sustrato). La fosforilación oxidativa proporciona mucha más energía y es el procedimiento preferente. De manera general, puede decirse que las macromoléculas (proteínas, polisacáridos y triglicéridos) se transforman en moléculas simples (aminoácidos, glucosa y ácidos grasos) que posteriormente originan acetil-CoA. Éste se metaboliza en el ciclo de Krebs produciendo coenzimas reducidos, especialmente NADH. La oxidación de este coenzima en las cadenas respiratorias mitocondriales origina finalmente ATP, que es utilizado para toda la actividad celular.

- El ATP no se almacena, sino que tiene que formarse al mismo tiempo que se utiliza. Sin embargo, en algunos tejidos, especialmente el tejido muscular, existe la posibilidad de almacenar una sustancia que se transforma muy fácilmente en ATP y viceversa: el creatín-fosfato. Con esta excepción, la imposibilidad de almacenar ATP obliga a su obtención inmediata a partir de los combustibles circulantes o de los depósitos de glucógeno o triglicéridos.

- Los procesos metabólicos se localizan en distintos compartimentos celulares. Esta compartimentación celular plantea problemas de transporte de metabolitos y coenzimas a través de las correspondientes membranas. En ocasiones, los metabolitos pueden acceder a localizaciones celulares diferentes mediante transportadores específicos. Otras veces, el problema de transporte se resuelve mediante el sistema de las llamadas "lanzaderas", como sucede especialmente con las lanzaderas de coenzimas reducidos.

- La mayor parte de las células del organismo son capaces de realizar las principales vías metabólicas, pero existen generalmente diferencias cuantitativas en el funcionamiento de las mismas. Como resultado de estas diferentes capacidades metabólicas, existe un importante intercambio de nutrientes y metabolitos entre los tejidos. Los principales órganos implicados en estas interrelaciones son el hígado, el músculo, el cerebro, el tejido adiposo y los eritrocitos, siendo el hígado el principal responsable del mantenimiento del equilibrio metabólico intertisular.

5. Bibliografía

Brody T. Nutritional Biochemistry. 2nd ed. Academic Press. San Diego, California, 1999.
Libro que analiza con detalle la estructura, así como la digestión, absorción y destino metabólico de los nutrientes.

Gibney M, MacDonald I, Roche HM. Nutrition & Metabolism, Blackwell Publishing Company. London, 2003.
Libro muy actualizado que enfoca la nutrición y el metabolismo desde un punto de vista integrado; está especialmente diseñado para el aprendizaje de la nutrición.

Medina JM, Sánchez de Medina F, Vargas AM. Bioquímica, 2ª ed. Síntesis. Madrid, 2003.
Manual básico de Bioquímica que incluye referencias a los aspectos nutricionales más destacados.

Murray R, Granner D, Mayes P, Rodwell V. Harper's Illustrated Biochemistry, 26th ed. Lange Medical Books/McGraw-Hill. New York, 2003.
Libro muy completo y muy actualizado, que relaciona la bioquímica humana con las alteraciones patológicas y la medicina molecular.

Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry 3ª ed. Omega. Barcelona, 2001.
Manual clásico de la bioquímica moderna; proporciona especialmente una visión muy clara de los constituyentes biológicos (la ya célebre "lógica molecular de la materia viva") y del metabolismo.

Salway JG. Una ojeada al metabolismo, 2ª ed. Omega. Barcelona, 2002.
Proporciona, como indica su título, la posibilidad de abordar el metabolismo desde lo más simple a lo más complicado, abordando, además, los aspectos patológicos más relevantes (fundamentalmente la diabetes) y los relativos al ejercicio.

Sanders T, Emery P. Molecular Basis of Human Nutrition. Taylor & Francis. London, 2003.
Libro que recoge los aspectos bioquímicos básicos relacionados con la utilización metabólica de los nutrientes.

Stipanuk MH. Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition. W.B. Saunders Company. Philadelphia. New York, 2000.
Tratado multiautor, que estudia con detalle la estructura y propiedades de los nutrientes, así como su digestión, absorción y metabolismo, y algunos aspectos concretos de las relaciones entre dieta y enfermedad.

Stryer L, Berg JM, Tymoczko JL. Bioquímica, 5ª ed. Reverté. Barcelona, 2003.
Otro texto clásico de bioquímica, especialmente destacable por la claridad expositiva y la amenidad de su lectura.

6. Enlaces web

- www.nlm.nih.gov/medlineplus/foodnutritionandmetabolism.html
- www.indstate.edu/theme/mwking
- www.vh.org/navigation/vh/topics/pediatric_provider_food_nutrition_and_metabolism.html
- www.science.gov/browse/w_127G.htm
- www.directory.net/Health/Conditions_and_Diseases/Nutrition_and_Metabolism_Disorders
- www.healthcyclopedia.com/nutrition-and-metabolism-disorders.html

1.3. Bases bioquímicas de la regulación metabólica

José Antonio Gómez Capilla ■ José Miguel Fernández Fernández ■
Carolina Gómez Llorente

Capítulo 1.3.

Bases bioquímicas de la regulación metabólica

1. Introducción

2. Regulación pasiva del metabolismo
- 2.1. Regulación cinética
- 2.2. Etapas enzimáticas
- 2.3. Unidireccionalidad de las rutas
- 2.4. Coenzimas diferentes para procesos diferentes
- 2.5. Compartimentación a nivel celular

3. Regulación activa del metabolismo
- 3.1. Economía de medios
- 3.2. Inhibición enzimática
  - 3.2.1. Inhibición competitiva
  - 3.2.2. Inhibición no competitiva
  - 3.2.3. Inhibición acompetitiva
- 3.3. Concentración de la enzima
- 3.4. Modificación de la actividad catalítica de una enzima
  - 3.4.1. Alosterismo
  - 3.4.2. Modificación covalente
  - 3.4.3. AMPc y regulación de kinasas
  - 3.4.4. Calcio y calmodulina
  - 3.4.5. Activación por proteólisis
- 3.5. Isoenzimas

4. Ejemplos de mecanismos de regulación enzimática
- 4.1. Inhibición irreversible
- 4.2. Inhibición reversible competitiva
- 4.3. Regulación alostérica
- 4.4. Regulación por modificación covalente

5. Resumen

6. Bibliografía

7. Enlaces web

Objetivos

- Conocer la importancia que tiene el control de las rutas metabólicas para la correcta actividad de los seres vivos.
- Conocer los conceptos básicos de la regulación metabólica.
- Entender las bases moleculares subyacentes a los mecanismos de regulación metabólica.
- Conocer los mecanismos más importantes del control de la actividad enzimática.
- Identificar las enzimas clave que intervienen en el control de las rutas metabólicas.
- Entender la importancia de los isoenzimas en el proceso de regulación de la actividad metabólica.
- Comprender la importancia que tiene el conocimiento de las enzimas en el diseño racional de fármacos.
- Conocer la importancia del mecanismo de regulación por modificación covalente como parte de un sistema integrador de la actividad metabólica de distintos tejidos.

1. Introducción

El mantenimiento de la homeostasis es una necesidad básica para cualquier organismo, y no sólo para responder a los cambios externos, ambientales, sino también a los internos, como, por ejemplo, las variaciones propias del medio interno en función de las diferentes fases que se suceden, de forma cíclica o lineal, a lo largo de su vida.

La regulación de la actividad enzimática es la herramienta clave para ejecutar estas respuestas al cambio. La regulación enzimática también es la herramienta del mantenimiento y regulación de la actividad metabólica, ya que el aparato metabólico ha de modularse permanentemente, en función de decenas de parámetros, desde la disponibilidad de nutrientes hasta las infecciones por agentes patógenos. Las enzimas reguladoras son también elementos clave en los cambios intrínsecos de la célula (y del organismo globalmente considerado), como la reproducción y los procesos de desarrollo y crecimiento. No se puede dejar de lado el que, desde un punto de vista médico, un porcentaje alto de enfermedades de diversas etiologías incluyen, en uno u otro momento de su desarrollo, la aparición de disfunciones en el proceso regulador.

Un importante número de agentes patógenos actúan alterando la malla metabólica de sus células blanco, por ejemplo, introduciendo en ella enzimas reguladoras alternativas, que eluden los mecanismos reguladores. El cólera es causado por la llamada toxina del cólera, que no es sino una enzima liberada por el *Vibrio colerae* que adenila proteínas G ligadas a receptores de membrana. Como consecuencia, altera el mecanismo de transmisión de información, por ejemplo, hormonal. En las células del epitelio digestivo esto tiene como consecuencia la activación incontrolada de la enzima adenilato ciclasa, lo que a su vez provoca un flujo descontrolado de agua desde la célula a la luz intestinal, que lleva a la deshidratación y muerte del enfermo. Otro caso es el actualmente bien conocido de *Yersinia pestis*, que causó durante muchos siglos una verdadera diezma de la población humana mediante la introducción en nuestras células de una proteína tirosina fosfatasa exógena. Muchas de nuestras propias proteínas, por ser blanco de esta tirosina fosfatasa, modifican sus actividades, alterando su mecanismo normal de funcionamiento en las cascadas enzimáticas de hormonas y factores de crecimiento.

En este mismo sentido, más aplicado, se puede afirmar que la mayor parte de los fármacos basan su mecanismo de acción en la modificación de la actividad de enzimas. Ejemplos pueden ser los antihiperuricémicos, que disminuyen la tasa de uratos en sangre, o las estatinas como inhibidoras de la HMG-CoA reductasa, la enzima reguladora de la síntesis de colesterol.

Los antibióticos ejercen su actividad antibacteriana, principalmente, inhibiendo la actividad de enzimas del patógeno. Así, por ejemplo, la estreptomicina inhibe la actividad proteosintética del ribosoma bacteriano, y la penicilina disminuye la actividad enzimática responsable del mantenimiento de la pared bacteriana. Para un mejor entendimiento de estos procesos de regulación, en el apartado 4 se desarrollan ejemplos de estos mecanismos.

2. Regulación pasiva del metabolismo

2.1. Regulación cinética

Los procesos metabólicos que regulan el flujo de intermediarios o metabolitos en las rutas celulares pueden controlarse de forma activa o pasiva. Esto significa que incluso las enzimas no reguladoras participan en la regulación metabólica, por varios mecanismos.

La cinética de las enzimas que muestran un comportamiento michaeliano se puede describir mediante el estudio de dos valores, a saber, la constante de Michaelis y la velocidad máxima. El primer valor es una constante característica de cada enzima, que representa la concentración de sustrato que provoca una velocidad (cinética) igual a la mitad de la máxima. Se representa como K_m. La segunda es la velocidad máxima, una constante que viene definida como la mayor velocidad que puede alcanzar una reacción enzimática a concentración saturante de sustrato. Este valor se representa como $V_{máx}$.

En primer lugar, la concentración de sustrato, en base a la K_m y la velocidad máxima de la enzima, así como su número de recambio, determinan la velocidad, y estos valores propios de cada enzima, a su vez, participan en la del conjunto de la ruta.

Esta respuesta simple de las enzimas michaelianas a los cambios de concentración de sustrato es ya, por sí misma, un elemento regulador, pasivo **(Figura 1)**.

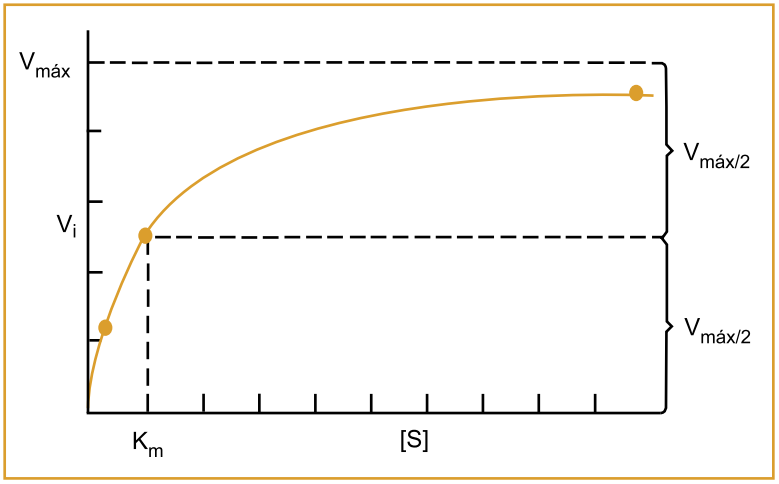


Figura 1. *Cinética de una enzima michaeliana.*

2.2. Etapas enzimáticas

Por otra parte, los procesos metabólicos están subdivididos a nivel enzimático, ya que una ruta está dividida en subrutas por la presencia de unas pocas enzimas reguladoras.

Las reacciones metabólicas son, en mayor o menor grado, reversibles. Esa reversibilidad en algunos momentos podría significar pérdida de eficiencia. Por ello, en la práctica, la mayoría de las rutas son irreversibles. La razón es puramente pasiva: aunque pueda haber en teoría una o varias reacciones que, aisladas, fueran reversibles, la suma de todas las que componen una ruta es unidireccional, ya que se produce un efecto sumidero. En efecto, hay dos razones para esto: la concentración alta de sustrato junto con la mucho menor de intermediarios y producto final es, por sí solo, un fenómeno pasivo que dirige en un solo sentido la ruta. Además, hay que considerar la energía libre de cada una de las reacciones. Las rutas metabólicas incluyen con frecuencia enzimas que por su variación de energía libre (ΔG) son etapa limitante. Por otra parte, las rutas bidireccionales poseen una ΔG próxima a 0.

2.3. Unidireccionalidad de las rutas

Existen rutas que aparentemente parecen bidireccionales, por ejemplo, glucólisis y gluconeogénesis. Sin embargo, la observación detallada permite apreciar que, aunque la mayoría de las enzimas, para cada etapa, son comunes para las dos direcciones, sin embargo, se encuentra siempre algún paso en el que en cada sentido actúa una enzima diferente. Las características cinéticas de estas parejas **complementarias** garantizan que las condiciones de flujo de metabolitos sean en cada situación unidireccionales. Estas parejas de enzimas regulan el flujo de forma pasiva, aunque con frecuencia una o las dos exhiben, además, mecanismos activos, descritos posteriormente. Este mecanismo se conoce como ciclo de sustrato.

2.4. Coenzimas diferentes para procesos diferentes

Algunas enzimas requieren para su actividad coenzimas. Éstos permiten otras formas de compartimentar las rutas metabólicas y también formas de regulación de la actividad de las enzimas. Existen grupos de coenzimas con actividades aparentemente idénticas, que pueden parecer redundantes, especialmente en el caso de las deshidrogenasas, y muy especialmente la pareja tan similar estructuralmente $NAD^+/NADH + H^+$ y $NADP^+/NADPH + H^+$. Un único grupo fosfato las diferencia. Este grupo fosfato permite que distintas parejas de enzimas tengan que distinguir entre las dos moléculas de coenzima. La especificidad de la enzima por el coenzima es tan alta, en algunos casos, como por el sustrato. El fosfato cuya ausencia o presencia es el motivo de la existencia de los dos coenzimas, es el elemento que permite a una u otra enzima distinguir entre ambos. Las enzimas y los coenzimas son diferentes para poder distinguir entre procesos.

Así, por ejemplo, el $NAD^+/NADH + H^+$ participa en la cadena mitocondrial de transporte electrónico, mientras que el $NADP^+/NADPH + H^+$ participa aportando potencial redox a procesos biosintéticos (p. ej., de ácidos grasos). Este mecanismo, completamente pasivo, es de gran importancia biológica.

Un caso distinto, pero igualmente interesante, es el de las transaminasas. Cada célula posee un número alto de transaminasas que permiten intercambiar grupos amino entre aminoácidos y α-cetoácidos. Este mecanismo se entiende, comúnmente, como una fase anfibólica común tanto para la síntesis de algunos aminoácidos (cediendo un grupo amino al α-cetoácido correspondiente) como en su catabolismo, eliminando el grupo amino del aminoácido a catabolizar, y sin duda forman parte de ambos procesos metabólicos, pero, además, también participan en un proceso regulador pasivo.

En efecto, esa malla de reacciones de transaminación permite, con efectos biológicos destacados, que cada célula equilibre las concentraciones relativas de cada uno de los 20 aminoácidos en base a las necesidades temporales o permanentes de la célula en cuestión. Es, en suma, un importante mecanismo regulador pasivo.

2.5. Compartimentación a nivel celular

La compartimentación, especialmente en eucariotas, incluye organelas específicas en las que se desarrollan procesos concretos. Así, por ejemplo, las funciones del aparato de Golgi, las del retículo endoplásmico, ribosomas, etc., son otras formas de compartimentación.

La regulación pasiva de la actividad enzimática expuesta en los párrafos anteriores es sólo una base de partida para entender el conjunto de la actividad reguladora desarrollada por las enzimas. Las enzimas pueden ser reguladas mediante mecanismos activos.

3. Regulación activa del metabolismo

3.1. Economía de medios

Los sistemas de regulación activos tienden a economizar medios. Una ruta completa puede ser controlada por una única enzima. Ese mecanismo simplificador es un elemento básico. Muchas rutas son controladas por una única enzima. La efectividad de ese único mecanismo regulador aumenta si esa enzima reguladora es a la vez la etapa limitante de la ruta completa.

3.2. Inhibición enzimática

Existen tres mecanismos que hacen que una enzima michaeliana, no reguladora, pueda ver inhibida su actividad por la unión con una molécula llamada inhibidor. Se trata de las inhibiciones competitiva, no competitiva y acompetitiva. Los análisis cinéticos de estas enzimas en ausencia y en presencia de los inhibidores permiten distinguir estos tres tipos.

Estos inhibidores, en multitud de ocasiones, son metabolitos que aparecen al final de la ruta metabólica en que está integrada la enzima. Este mecanismo que se produce en un producto final (o próximo al fin de la ruta) se conoce como retroalimentación o regulación por producto final, y es uno de los más frecuentes mecanismos por los

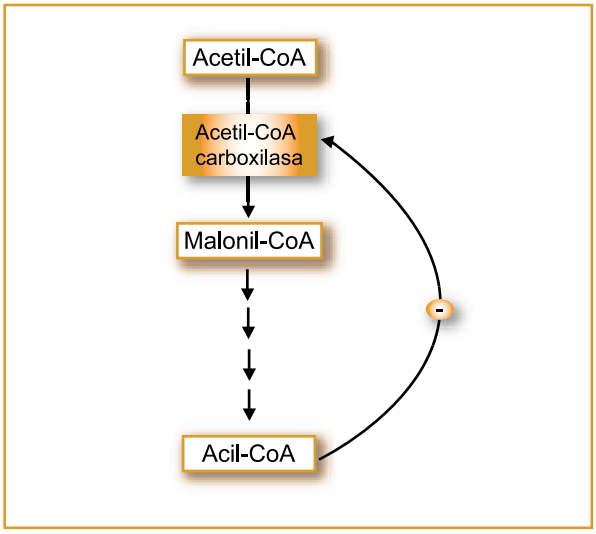


Figura 2. *Mecanismo de inhibición por producto final: acetil-CoA carboxilasa. El producto final de la reacción acil-CoA es un inhibidor de la enzima.*

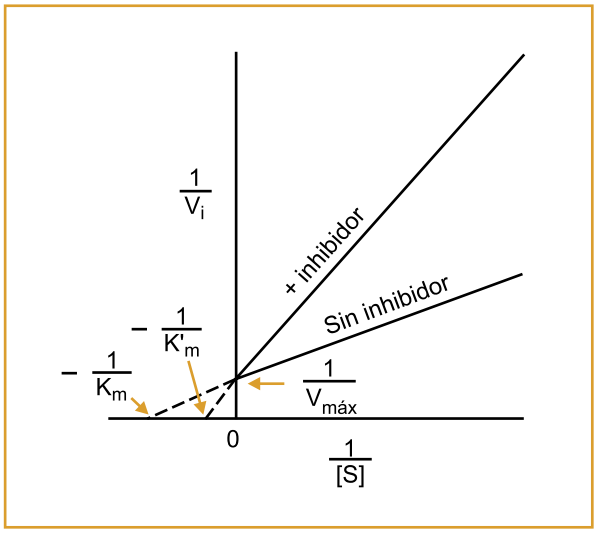


Figura 3. *Inhibición competitiva. Se muestra la linearización de Lineweaver-Burk.*

que se puede controlar el flujo a través de una vía metabólica. En el apartado 3.4 se vuelve a comentar este mecanismo **(Figura 2)**.

Múltiples moléculas e iones disminuyen, también, la actividad de una enzima de forma irreversible (p. ej., metales pesados), aunque no se puede considerar este fenómeno como objeto directo de este texto, ya que se trata de mecanismos no fisiológicos, se incluye un ejemplo en el apartado 4.1.

3.2.1. *Inhibición competitiva*

La inhibición competitiva se caracteriza por que el inhibidor es una molécula muy parecida al sustrato. Esta similitud es la que permite la acción inhibidora, ya que el inhibidor es capaz de ocupar el centro activo, con la consiguiente disminución de la actividad catalítica. En efecto, para un momento dado, un cierto número de moléculas tienen su centro activo ocupado con otra molécula distinta del sustrato. La inhibición será mayor o menor en función de la concentración de sustrato e inhibidor. Esta inhibición es competitiva, ya que sustrato e inhibidor compiten por el mismo centro de unión. Además, es reversible, pues un incremento relativo de sustrato disminuirá la ocupación del centro activo por el inhibidor. Desde un punto de vista cinético, esta inhibición se manifiesta por aumentar el valor de la K_m, y pasa a llamarse K_m aparente.

En el apartado 4.2 se desarrolla por extenso un ejemplo de este tipo de inhibición **(Figura 3)**.

3.2.2. *Inhibición no competitiva*

Un inhibidor no competitivo no se une a la enzima a nivel del centro activo, sino en algún otro lugar de la molécula. Por tanto, un aumento de concentración de sustrato no desplaza al inhibidor.

Estas inhibiciones se caracterizan por una disminución de la velocidad máxima. El inhibidor se une a la enzima, disminuyendo su actividad catalítica **(Figura 4)**.

3.2.3. *Inhibición acompetitiva*

Hace no muchos años se encontró este tercer tipo de inhibición, que se caracteriza por que el inhibidor se une al complejo enzima/sustrato, impidiendo la actividad. Estas enzimas ven modificadas su K_m y su $V_{máx}$ **(Figura 5)**.

3.3. Concentración de la enzima

Con frecuencia se olvida que el primer mecanismo que determina el flujo en una ruta metabólica es la concentración de cada una de las enzimas. La

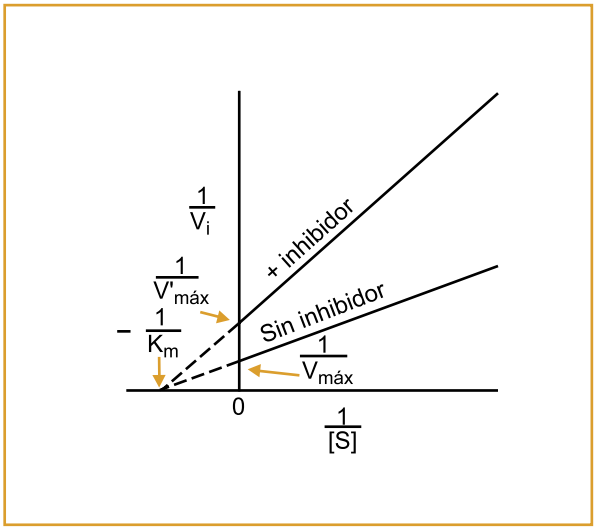


Figura 4. *Inhibición no competitiva. Se muestra la linearización de Lineweaver-Burk.*

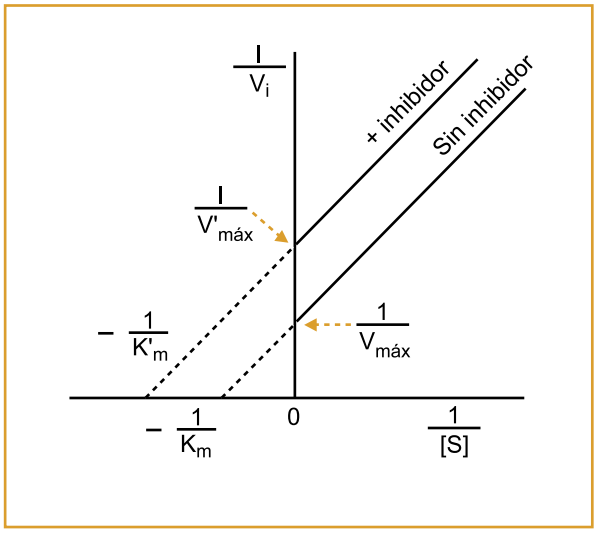


Figura 5. *Inhibición acompetitiva. Se muestra la linearización de Lineweaver-Burk.*

síntesis y degradación de proteínas es un proceso permanente en la célula. Permite, entre otras cosas, asegurar que las proteínas serán plenamente funcionales. Este procedimiento afecta a las enzimas. Además, los procesos de síntesis y catabolismo proteico contienen elementos reguladores. El resultado es que la cantidad de enzima puede variar en función a las señales que la sinteticen o degraden. La cantidad de una enzima concreta presente en una célula se deriva de la fracción catabolismo/anabolismo de la enzima problema. Ambos procesos son independientes.

La síntesis de enzima es un proceso inducido. Un buen ejemplo de inductor que incrementa la concentración de una enzima es el inductor de β-galactosidasa en *E. coli*. En este caso, los inductores (galactosa o β-galactósidos) están relacionados con la ruta metabólica, pero en otros casos no. A los inductores de este segundo tipo se les llama inductores gratuitos. Los inductores pueden, y lo hacen frecuentemente, inducir la síntesis de varias, e incluso de todas, las enzimas de la ruta. Algunas enzimas, llamadas constitutivas, se expresan sin necesidad de inductor. Una misma enzima, en diferentes células de un mismo organismo, puede ser constitutiva en una, inducible en otra y no expresarse en una tercera.

Todos estos fenómenos se dan también en eucariotas. La síntesis de aminoácidos es inducible en muchos animales. Algunos productos finales de la acción de una enzima pueden reprimir la síntesis de la misma.

El otro parámetro que determina la concentración de una enzima, su degradación, dando lugar a aminoácidos libres, también es un proceso regulado. Las vías dependientes e independientes de ubiquitina son bastante bien conocidas. Las concentraciones de sustratos, productos y cofactores, modulan este proceso (*ver Capítulo 1.6*). Las tasas de degradación están reguladas muy precisamente. Un ejemplo bien conocido es la actividad de algunas hormonas corticoides sobre el proceso.

En mamíferos se encuentran muchas pruebas de que un cierto número de factores fisiológicos, hormonales o dietéticos, afectan de forma importante a las concentraciones de cada enzima en cada momento funcional. Los detalles de estos mecanismos reguladores en eucariotas permanecen aún bajo estudio.

3.4. Modificación de la actividad catalítica de la enzima

Actualmente se conocen dos grandes grupos de mecanismos que modifican la actividad catalítica de muchas enzimas: el alosterismo y la modificación covalente.

3.4.1. Alosterismo

Las enzimas alostéricas constituyen un importante grupo de enzimas reguladoras. Entre sus ca-

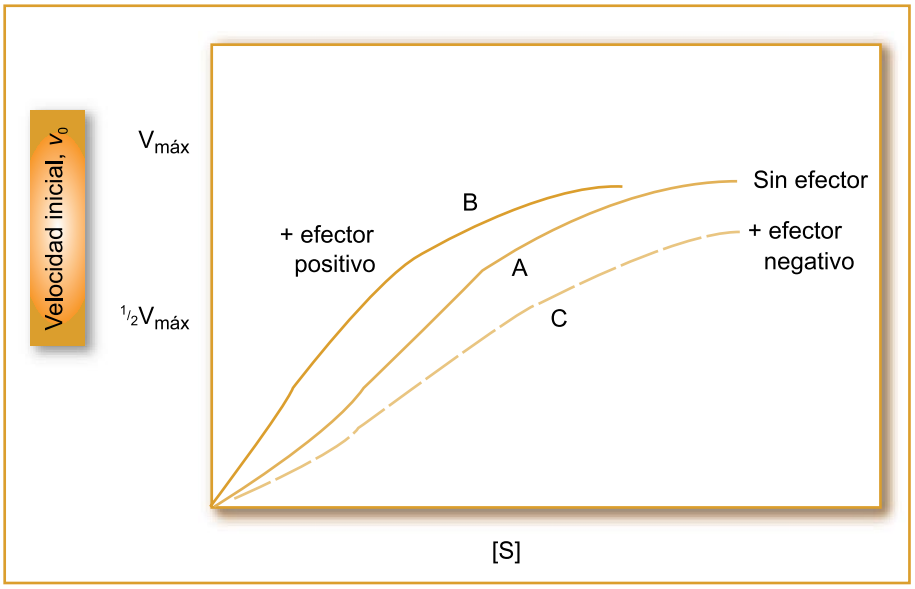


Figura 6. *Cinética alostérica: un ejemplo de cinética de una enzima con cooperatividad positiva.*

racterísticas se encuentra el que están moduladas por moléculas de bajo peso molecular llamadas moduladores alostéricos. Frecuentemente, pero no siempre, los moduladores son análogos estructurales del sustrato. Estos moduladores o efectores pueden ser positivos (activadores) o negativos (inhibidores). Frecuentemente, como se señaló en el apartado 3.2, estos efectores son productos que aparecen más adelante en el curso de la ruta metabólica. El fenómeno se llama regulación por producto final, aunque a veces no sea exactamente el último. También se conoce como retroalimentación, que normalmente es negativa (aunque las hay positivas) y que constituye un mecanismo muy frecuente de control de una ruta metabólica.

Las enzimas alostéricas poseen diferentes centros. Frecuentemente estas enzimas poseen centros catalíticos y centros reguladores independientes, aunque a veces el efector (tanto positivo como negativo) es el propio sustrato. En ese caso, se habla de cooperatividad, positiva o negativa.

Debido a esta multiplicidad de centros, los efectos cinéticos de los efectores sobre la actividad catalítica pueden afectar tanto a la $V_{máx}$ como a la K_m.

La base molecular del alosterismo es el cambio de conformación de la enzima. Sintéticamente: las enzimas alostéricas poseen dos conformaciones diferentes, que se conocen como formas (o estados) T (tensa) y R (relajada). Los cambios conformacionales se acompañan de los cambios de actividad de la enzima.

Una importante característica frecuente de estas enzimas es que ante la presencia de varios posibles efectores que actúan sobre la actividad de la enzima, uniéndose a varios centros, la enzima regula en función de un abanico de situaciones metabólicas.

Estas enzimas característicamente tienen cinéticas no michaelianas, aunque la descripción de estas cinéticas alostéricas excede el objetivo de este Capítulo **(Figura 6)**.

En el apartado 4.3 se desarrolla un ejemplo de este tipo de regulación.

3.4.2. Modificación covalente

Es frecuente que las proteínas desde el momento de su síntesis hasta su catabolismo se modifiquen, adquiriendo determinados grupos químicos, que se unen mediante enlaces covalentes. Así, por ejemplo, glicosilaciones, hidroxilaciones y acilaciones, que inducen cambios estructurales, a menudo relacionados con la actividad de la proteína. En el caso que nos ocupa, de la actividad enzimática, estos fenómenos se dan, aunque participen sólo de forma ligera en el control de la actividad de la enzima (p. ej., facilitando la solubilidad o aumentando la afinidad por el ligando). Son, casi siempre, cambios permanentes.

Sin embargo, algunas enzimas presentan dos formas diferentes basadas en la presencia o ausencia de un ligando que se une al resto de la molécula de la enzima mediante un enlace covalente. En general, se puede afirmar que una de las formas es más activa que la otra. El cambio de una a otra forma, ya que se trata de la generación de un enlace covalente o su eliminación, requiere a su vez una segunda enzima. Es más, lo normal es que se requieran dos enzimas, una para incluir en la estructura

al ligando y otra para que la molécula de la enzima lo pierda. Estos cambios por modificación covalente juegan un importante papel en la regulación de la actividad de las enzimas.

Actualmente, se conocen mecanismos de adenilación, metilación y fosforilación/desfosforilación. Este último mecanismo resulta especialmente importante, ya que en una célula de mamífero se calcula que hay más de 5.000 proteínas que pueden fosforilarse y desfosforilarse. La enzima encargada de fosforilar es una proteína kinasa, y la que elimina el grupo fosfato es una fosfoproteína fosfatasa. Estas enzimas son las que controlan la cantidad de la enzima regulada por modificación covalente. No existe ninguna norma que asocie la actividad/inactividad de la enzima con el estado fosforilado/desfosforilado. En unos casos (p. ej., glucógeno fosforilasa) la forma más activa es la fosforilada, mientras en otros (p. ej., glucógeno sintasa) es la forma desfosforilada la más activa. En general, la forma activa o más activa de las dos se llama forma a, y la inactiva o menos activa se llama forma b de la enzima. Así, por ejemplo, la forma más activa de la glucógeno fosforilasa se llama glucógeno fosforilasa a, mientras que la inactiva (menos activa) se conoce como glucógeno fosforilasa b. La fosforilación se efectúa en un aminoácido con grupo hidroxilo, como serina o tirosina. A las actividades responsables de la fosforilación en serina, treonina o tirosina se conocen como actividades, serina kinasa, treonina kinasa o tirosina kinasa.

Las proteína kinasas y las fosfoproteína fosfatasas son, por tanto, al fosforilar o desfosforilar la enzima, las que regulan su actividad. Estas enzimas con frecuencia aceptan como sustratos diferentes enzimas, aunque algunas son específicas de una sola enzima.

Por otra parte, las enzimas cuya actividad es regulada por cambios covalentes con frecuencia son, también, reguladas por mecanismos alostéricos.

La fosforilación de una enzima puede actuar sobre ciertas características de la enzima diferentes de la regulación de la actividad, por ejemplo, aumentando la afinidad por el sustrato, o incluso al compartimento celular en que se encuentre, o por la afinidad por los ligandos alostéricos que se acaban de citar.

Muchas proteínas pueden ser fosforiladas, y, por tanto, desfosforiladas, en varios residuos. Esto permite, por una parte, que diferentes proteína kinasas puedan actuar sobre la misma enzima; por otra, los efectos pueden sumarse, y de esa manera regular más finamente la actividad de la enzima, como se verá posteriormente.

En el apartado 4.4 se desarrolla un ejemplo de este tipo de regulación, el de la glucógeno fosforilasa y el de la glucógeno sintasa, que regulan la síntesis y degradación del glucógeno.

Este mecanismo de regulación por el que la actividad de proteína kinasas y fosfoproteína fosfatasas determina la actividad de la enzima es habitualmente la etapa final del mecanismo de acción de hormonas y otras señales químicas. Este tipo de mensajeros producen una cascada de acción que entre sus efectos finales tiene la activación o inhibición de enzimas reguladas por modificación covalente. Los segundos mensajeros (AMPc, Ca^{++}, fosfatidil inositol...), en ese conjunto de reacciones en cascada, actúan directa o indirectamente sobre las proteína kinasas y las fosfoproteína fosfatasas.

El mecanismo regulador de estas enzimas es muy sofisticado y versátil, ya que muchas de estas enzimas poseen diferentes lugares de fosforilación/desfosforilación, lo que permite que diversas kinasas y fosfatasas las puedan modular. De esa manera, una misma enzima puede recibir señales diferentes, que pueden tener orígenes metabólicos, hormonales, etc. A su vez, las proteína kinasas y las fosfatasas pueden actuar sobre diferentes enzimas blanco.

La suma de estos dos fenómenos hace que el conjunto de proteínas reguladas covalentemente y el de las kinasas y fosfatasas que las activan/desactivan formen redes reguladoras mediante las cuales llegan las diferentes señales efectoras y reguladoras que actúan a nivel de enzimas.

3.4.3. AMPc y regulación de kinasas

Además de las modificaciones covalentes descritas anteriormente, existe un caso de modificación covalente muy interesante, ya que juega un papel importante en la regulación del metabolismo por señales hormonales (*ver Capítulo 1.5*).

Hay un gran grupo de hormonas cuyo segundo mensajero es el AMPc. Este nucleótido monofosfato tiene la capacidad de unirse covalentemente a una enzima concreta, la proteína kinasa AMPc dependiente, que en respuesta a esa unión se activa,

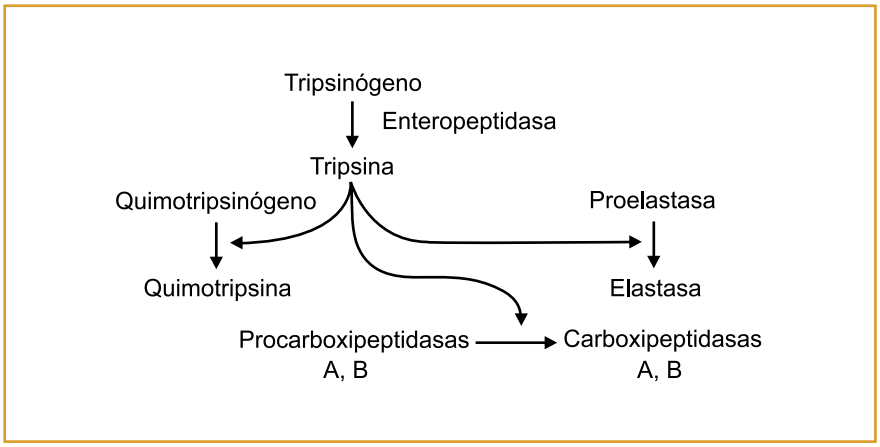


Figura 7. *Activación de los zimógenos pancreáticos.*

continuando así la cascada de acontecimientos que comenzó con la liberación de la hormona.

3.4.4. Calcio y calmodulina

La calmodulina es una proteína que participa en la regulación de la actividad enzimática. Esta proteína, cuando se activa, dispara procesos mediados por proteínas y enzimas. La calmodulina es un intermediario en cascadas de acción enzimática. La unión de Ca^{++} con esta proteína produce su activación ejerciendo su acción sobre diferentes enzimas. A su vez, el calcio es liberado al citoplasma celular en respuesta a la llegada de señales hormonales y de otros tipos. La recaptación del ión hacia sus depósitos celulares vuelve a dejar a la calmodulina en la forma inactiva.

Ése es, por ejemplo, el mecanismo de disparo de la contracción muscular.

3.4.5. Activación por proteólisis

Muchas enzimas, entre otras algunas digestivas, otras del sistema de coagulación y también algunas del sistema inmune del complemento, se secretan o liberan a fluidos corporales en una forma inactiva (proenzima o zimógeno). Esas enzimas permanecen inactivas hasta que una proteasa las activa mediante un procedimiento llamado escisión proteolítica. Esta proteasa fragmenta, en sitios específicos, al menos, en dos péptidos, al zimógeno. De ellos, uno es la forma activa de la enzima. Algunos de estos zimógenos (p. ej., del sistema del complemento) al escindirse producen dos péptidos que poseen actividad La **Figura 7** muestra un esquema de la activación de los zimógenos pancreáticos.

Este mecanismo regulador es importante como parte de sistemas reguladores para el mantenimiento de la homeostasis. Procesos como los señalados de la coagulación y complemento, cuya actuación requiere velocidad y ubicuidad, están formados por enzimas (p. ej., trombina), cuya actuación debe restringirse a los momentos en que realmente se necesita. Por otra parte, han de responder en poco tiempo y en cualquier lugar del organismo. Sólo cumpliendo esas condiciones el resultado de su acción será deseable. Al ser liberados en forma inactiva (protrombina, en el ejemplo que se está planteando) se asegura que está distribuida, pero es inactiva. Cuando se produce una señal (kalicreína, kininógeno de alto peso molecular, factor tisular) se activa la proteólisis y la coagulación empieza, pero sólo en aquella zona del organismo en que se ha producido la señal. En el caso de las enzimas digestivas, el problema es diferente: la capacidad autoproteolítica de estas enzimas permite que sí se liberen en forma activa. Al liberarse en forma de zimógenos sólo se activan ante una señal de digestión, en cuyo momento empiezan a actuar. Por otra parte, hay algunos casos, como el del pepsinógeno, en que es la propia molécula la que se autocataliza ante un descenso de pH, que a su vez es consecuencia de la secreción de ClH de las células estomacales. Dicho cambio de pH se produce por señales generadas por la ingesta y/o la digestión.

El proceso no se limita a enzimas, ya que algunas hormonas se liberan también en forma inactiva (prohormona) y posteriormente una proteasa, por el mecanismo descrito, las activa.

3.5. Isoenzimas

Al avanzar en el conocimiento de las enzimas, se llegó a la conclusión de que algunas de ellas aparecían en formas diferentes que presentaban comportamientos cinéticos, e incluso pesos moleculares o

número de monómeros, distintos. A estas variantes de una misma enzima se les llamó isoenzimas. Una característica prontamente observada de estas enzimas era que cada una de ellas se expresa en un tejido distinto, aunque en algunos casos un mismo tejido expresa dos o más formas. También un mismo tejido puede expresar en diferentes momentos de su desarrollo. Un ejemplo, aunque de una proteína no enzimática, es la expresión pre y posnatal de hemoglobina fetal o adulta. Algunas isoenzimas se expresan de forma diferencial en compartimentos celulares distintos. Las ornitina transcarbamoilasa I y II constituye un buen ejemplo.

Estas enzimas forman parte de los mecanismos de regulación de organismos complejos, ya que permiten que diferentes formas isozimáticas tengan, por ejemplo, distintos pH óptimos, o distintas afinidades por el sustrato. La láctico deshidrogenasa, por ejemplo, presenta diferentes isoformas, repartidas en los diferentes tejidos. Así, la forma M (músculo esquelético) y la H (músculo cardiaco) se diferencian en la afinidad por el sustrato, mayor en la H, en la inhibición alostérica producida por el piruvato, alta en la forma M y casi inexistente en la H. Estas particularidades les permite a las diferentes isoformas ser más adecuadas en su función, en diferentes tejidos o compartimentos. Algunas de estas enzimas son, además, reguladoras, y presentan efectores diferentes.

En la clínica estas enzimas tienen, frecuentemente, un uso diagnóstico debido a su expresión en diferentes tejidos. Las distintas formas de láctico deshidrogenasa (LDH), al margen de tener características diferentes en cada tejido en que se expresa, permiten determinar el origen de daño tisular, con precisión. La creatina fosfokinasa (CPK) se emplea de forma generalizada en la clínica con finalidad diagnóstica. La presencia de diferentes formas en el músculo esquelético y cardiaco la hacen idónea para el diagnóstico y pronóstico de infartos, así como el diagnóstico de patologías de la fibra muscular esquelética.

4. Ejemplos de mecanismos de regulación enzimática

De acuerdo con lo expuesto en la introducción de este Capítulo, a continuación se ilustra con algunos ejemplos la importancia que tiene la regulación de la actividad de las enzimas como parte de un mecanismo que los organismos vivos han desarrollado a través del proceso de evolución y que les han proporcionado la capacidad de adaptación a las variaciones producidas, tanto en su entorno como a las intracelulares, necesaria para su supervivencia.

4.1. Inhibición irreversible

La actividad catalítica de una enzima se basa en la capacidad de reordenar los enlaces covalentes de las moléculas que participan en la reacción catalizada por la enzima, disminuyendo de esta manera la energía de activación y, por lo tanto, acelerando la velocidad de la reacción en la que participa. Esto se consigue debido a las interacciones que se producen entre las moléculas que van a reaccionar y los grupos funcionales del centro activo de la enzima.

La inhibición irreversible se produce cuando los grupos esenciales para la actividad de la enzima se destruyen o se combinan mediante enlaces covalentes estables con ciertas sustancias que actúan como inhibidores irreversibles. En este caso, el inhibidor inactiva de forma permanente la enzima actuando como un verdadero veneno enzimático.

Aunque estos inhibidores no intervienen en el funcionamiento y en el control normal de la actividad de los organismos vivos, sin embargo, adquieren su importancia, ya que el uso de ciertos inhibidores ha permitido conocer la estructura del centro activo de algunas enzimas y también ha contribuido al desarrollo de fármacos con los que controlar algunos procesos patológicos.

De particular importancia son los inhibidores irreversibles que actúan reaccionando con un grupo hidroxilo de un radical de serina, esencial para la actividad enzimática, perteneciente al centro activo de una enzima. La importancia de este mecanismo de inhibición enzimática se pone de manifiesto en los siguientes ejemplos:

• La inhibición irreversible de la actividad de la enzima quimotripsina con el compuesto diisopropil fluoroacetato permitió conocer que la existencia de un grupo OH perteneciente a un aminoácido serina del centro activo de la enzima era esencial para su actividad enzimática.

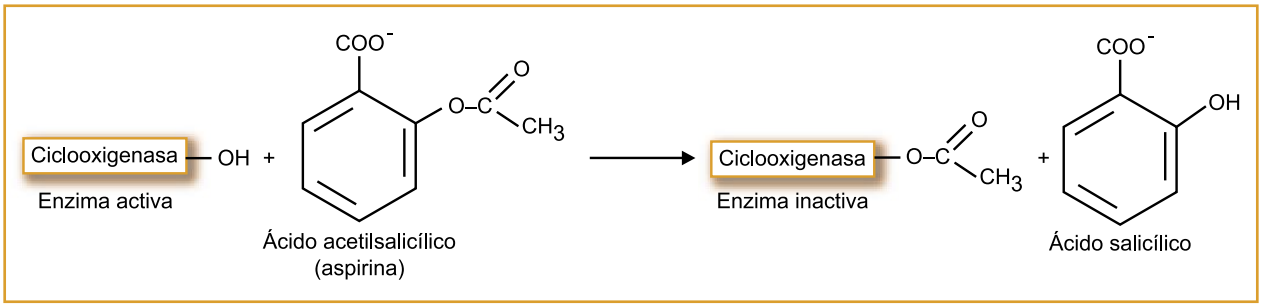


Figura 8. *Inhibición de la enzima ciclooxigenasa por aspirina.*

• El descubrimiento de la penicilina supuso un paso de extraordinaria importancia en el control de la infección bacteriana. Hoy se conoce que su efecto antibiótico reside en un mecanismo de inhibición irreversible.

La pared bacteriana está formada por un péptido-glicano que consta de una cadena de polisacárido entrecruzada con péptidos cortos. Esta estructura proporciona a la membrana bacteriana una resistencia mecánica suficiente para poder soportar su elevada presión osmótica interna.

El entrecruzamiento de las distintas cadenas del péptido-glicano está catalizado por la enzima glicopéptido transpeptidasa, que es inhibida por la penicilina a través de la unión del antibiótico, mediante un enlace covalente, con el grupo hidroxilo de un resto de serina perteneciente al centro activo. De esta manera, la enzima queda irreversiblemente inhibida.

Si importante es el mecanismo por el que la penicilina inhibe el crecimiento bacteriano, no menos importante es el mecanismo de acción de un fármaco tan básico como la aspirina, debido, entre otras cosas, a su uso tan ampliamente extendido y a sus efectos farmacológicos tales como antiagregante plaquetario y, por lo tanto, muy usado en el tratamiento y control de la enfermedad isquémica vascular, o como antiinflamatorio, antiálgico o antipirético.

Los procesos de la agregación plaquetaria o de la inflamación están mediados por prostaglandinas y tromboxanos, eicosanoides que se sintetizan a partir del ácido araquidónico por la enzima prostaglandina sintasa, enzima bifuncional con actividad ciclooxigenasa e hidroperoxidasa (*ver Capítulo 1.4*). La aspirina **(Figura 8)** reacciona con un residuo de serina del centro activo de la enzima ciclooxigenasa, acetilándolo, lo que produce la inactivación irreversible de la enzima y el cese de la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos.

Finalmente, merece la pena citar la inhibición irreversible de la enzima acetilcolinesterasa por reacción de un grupo hidroxilo de un residuo esencial de serina del centro activo con compuestos fluorados usados como insecticidas.

El fluorofosfato de diisopropilo (FDP) es un inhibidor irreversible muy activo de la enzima y, por lo tanto, muy tóxico, habiendo sido uno de los primeros gases nerviosos que se descubrieron.

El FDP no sólo es un inhibidor irreversible de la acetilcolinesterasa, sino también de la quimiotripsina, elastasa o fosfoglucomutasa a través del mismo mecanismo. El conocimiento del mecanismo de inhibición de estos compuestos ha permitido desarrollar insecticidas, relativamente menos tóxicos para el hombre, debido a que son inactivos por sí mismos, pero pueden ser degradados por los insectos, convirtiéndose entonces en un inhibidor activo de la acetilcolinesterasa, enzima que cataliza la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina.

4.2. Inhibición reversible competitiva

El tipo de inhibición reversible más común es la que se produce debido a la presencia, en una reacción química, de un compuesto de estructura análoga a la del sustrato que compite por el centro activo de la enzima impidiendo su unión. Este tipo de inhibición se denomina competitiva.

Aunque los mecanismos más precisos e importantes por los que se controlan las rutas metabólicas se basan en el control de la actividad enzimática por mecanismos más complejos que el de la inhibición competitiva, sin embargo, este tipo de inhibición no deja de tener su importancia ya que, como en el caso anterior, el conocimiento de este mecanismo ha aportado datos que han ayudado

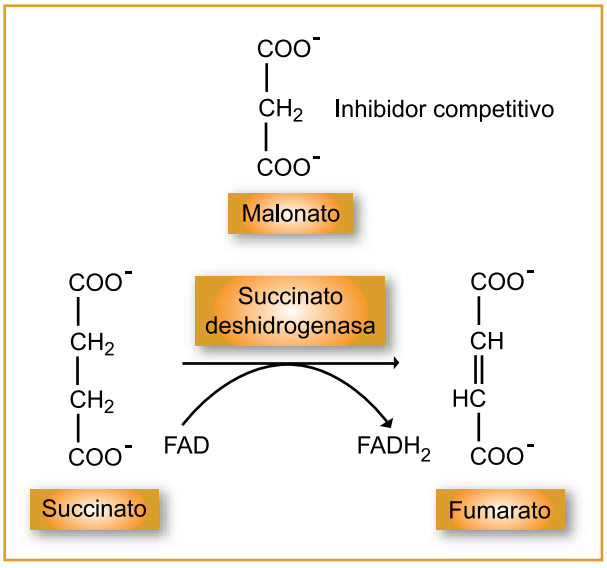


Figura 9. *Malonato: un inhibidor competitivo de la enzima succinato deshidrogenasa.*

a establecer rutas metabólicas, así como el diseño de fármacos.

Uno de los ejemplos que mejor tipifica la inhibición competitiva es la producida en la enzima succinato deshidrogenasa. Esta enzima cataliza la reacción del ciclo de Krebs por la que el succinato se convierte en fumarato, y es una flavoproteína cuyo grupo prostético (FAD) actúa como aceptor de los hidrógenos **(Figura 9)**. Como se puede observar, el malonato tiene una estructura muy parecida a la del sustrato de la enzima, puesto que posee, al igual que éste, dos grupos carboxilos separados por un grupo metileno, pudiendo adaptarse al centro activo, compartiéndolo con el succinato.

La inhibición de la enzima succinato deshidrogenasa por el malonato tiene un interés particular, ya que el uso de este inhibidor en experimentos llevados a cabo por Hans Krebs aportaron, entre otras, pruebas que condujeron al establecimiento de la ruta metabólica que hoy lleva su nombre. En efecto, la adición de malonato a preparaciones *in vitro* de músculo esquelético inhibió la oxidación del piruvato, lo que indicaba que la transformación del succinato en fumarato debería ser una de las reacciones que interviniesen en la oxidación del piruvato. Posteriormente, se demostró que la inhibición de la oxidación aeróbica del piruvato por el malonato producía una acumulación de α-cetoglutarato y de succinato. De estas observaciones y de otras evidencias experimentales Krebs postuló la existencia de una ruta cíclica que denominó ciclo del ácido cítrico.

El hecho de que una enzima pueda ser inhibida por compuestos con estructura relacionada con la del sustrato no se limita al conocimiento de las reacciones enzimáticas que participan en ciertas rutas metabólicas. Muchos de los efectos biológicos de algunos fármacos son consecuencia de la alteración de rutas metabólicas a través de la modificación de la actividad de las enzimas que participan en ellas.

Ciertos microorganismos sintetizan el ácido fólico como un factor esencial del crecimiento a partir del ácido paraaminobenzoico. La amida del ácido sulfanílico y sus derivados, por sustitución de un hidrógeno del grupo amida, tales como sulfaguanidina, sulfatiazol, sulfapiridina o sulfadiazina (reciben el nombre de sulfamidas) tienen una estructura semejante a la del ácido paraaminobenzoico **(Figura 10)** y actúan como inhibidores competitivos, impidiendo la síntesis del ácido fólico. Así pues, las sulfamidas son usadas como un antibiótico eficaz gracias al bloqueo de una reacción enzimática esencial para ciertas bacterias, sin influir sobre el hombre, ya que éste no obtiene el ácido fólico a partir del ácido paraaminobenzoico.

Análogos estructurales de sustratos que intervienen en el metabolismo de los nucleótidos de purinas y de pirimidinas son agentes terapéuticos eficaces en el control del crecimiento anormal celular.

La transformación de una célula normal en tumoral se caracteriza, entre otros fenómenos, por la pérdida del control del ciclo celular y por lo tanto crece más deprisa que la célula normal. En esta situación, los requerimientos de los nucleótidos necesarios para la síntesis de DNA son mayores y, por lo tanto, la inhibición de su síntesis es uno de los caminos empleados para controlar el crecimiento anormal de la célula cancerosa. La quimioterapia se basa en el uso de análogos estructurales que inhiben competitivamente las enzimas que intervienen en estas rutas metabólicas.

Tres ejemplos ilustran lo que se acaba de exponer y se refieren a la inhibición de las enzimas glutamina amidotransferasa, timidilato sintasa y dihidrofolato reductasa.

La glutamina amidotransferasa es una enzima que interviene en los primeros pasos de la ruta

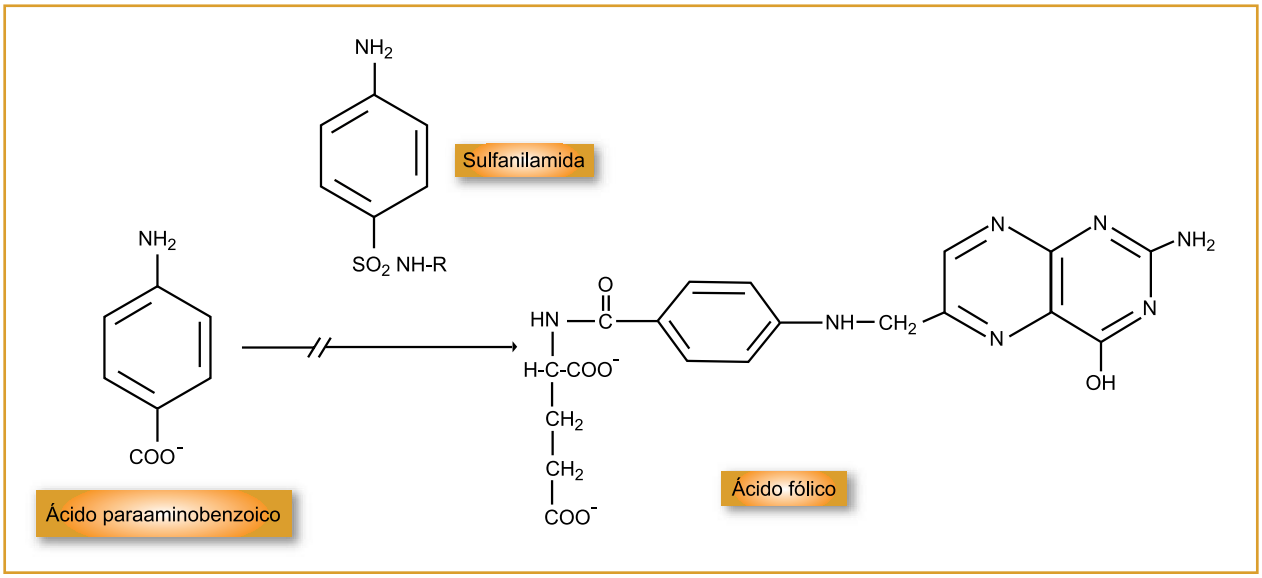


Figura 10. *Inhibición de la síntesis de ácido fólico por sulfamidas.*

metabólica que conduce a la síntesis de los nucleótidos de adenina y de guanina **(Figura 11)** y cataliza una reacción en la que la glutamina cede un grupo amino que se constituye en el primer átomo sobre el que se irán añadiendo otros nuevos hasta formar la estructura básica de las bases púricas. Esta enzima se ve fuertemente inhibida por la presencia de azaserina, un análogo estructural de la glutamina.

La síntesis del nucleótido, componente de la molécula de DNA, desoxitimidín monofosfato (dTMP) **(Figura 12)** se realiza a partir de desoxiuridín monofosfato (dUMP) en una reacción catalizada por la enzima timidilato sintasa con la intervención de metilentetrahidrofolato, que se convierte en dihidrofolato. Este último se regenera en dos pasos, uno de ellos está catalizado por la enzima dihidrofolato reductasa. Esta ruta metabólica es la única ruta empleada por la célula para la síntesis de timina.

El fluorouracilo es un importante agente quimioterapéutico. Tras su administración, las células lo convierten en desoxifluorouracil monofosfato (dFUMP) que se une a la enzima timidilato sintasa, inhibiéndola.

Otro agente quimioterapéutico de importancia es el metotrexato, que actúa como un inhibidor competitivo de la enzima dihidrofolato reductasa por su semejanza con el sustrato natural de la enzima, que es el 7-8-dihidrofolato. El metotrexato se une a la enzima con una afinidad cien veces mayor que la de su sustrato.

En el proceso de degradación de los nucleótidos de purina AMP y GMP, se produce ácido úrico como producto final, que se elimina vía renal por la orina. Una alteración metabólica que conduzca a una superproducción de ácido úrico, o una mala función renal que altere su eliminación, producirá un aumento de su concentración que puede sobrepasar el valor del grado de solubilidad, precipitar y acumularse en articulaciones y riñón, produciendo el cuadro clínico de la artritis gotosa.

El alopurinol **(Figura 13)** es un fármaco que se usa de manera eficaz en el control de la uricemia a través de la inhibición de la enzima xantina oxidasa, puesto que, como se puede observar, presenta una estructura muy parecida a la de los sustratos naturales de estas enzimas. La inhibición de dichas enzimas evita la formación de ácido úrico, eliminándose en este caso los productos del catabolismo de los nucleótidos de adenina y de guanina en forma de hipoxantina o de xantina, que son compuestos más solubles en agua que el ácido úrico y, por lo tanto, tienen una menor probabilidad de precipitar.

4.3. Regulación alostérica

El mecanismo de regulación alostérica se basa en la interacción de los moduladores de la actividad en-

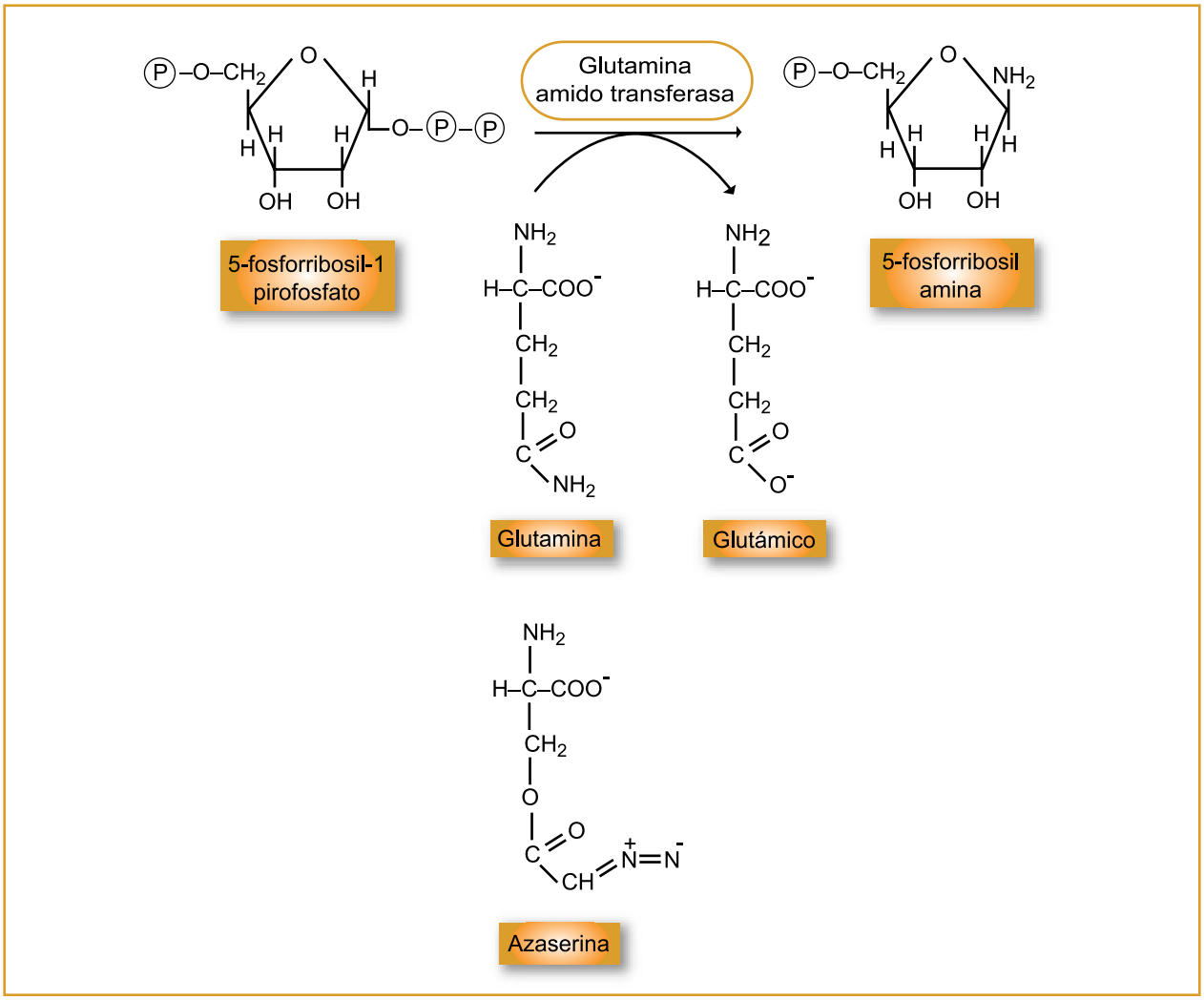


Figura 11. *La azaserina es un análogo estructural de la glutamina e inhibe la síntesis de nucleótidos.*

zimática en los sitios reguladores de la enzima, produciendo en ésta cambios de conformación que se transmite al centro activo, modificándose de esta manera su afinidad por el sustrato. El cambio entre la forma activa e inactiva de la enzima a través de los cambios conformacionales de la misma, así como los efectos cinéticos que producen los moduladores, distinguen este mecanismo de regulación del producido en la inhibición acompetitiva o en la mixta. Asimismo, las enzimas reguladoras alostéricas son más complejas que las no alostéricas y están compuestas por dos o más cadenas polipeptídicas.

Estas enzimas son responsables del control de la velocidad de las rutas metabólicas, constituyendo la base que subyace en el proceso que permite a la célula adaptarse a los cambios que se producen en relación con sus necesidades energéticas o a las de las moléculas necesarias para su crecimiento. Para cumplir estos objetivos y con una finalidad de máxima eficacia, estas enzimas suelen actuar en las primeras etapas de una ruta metabólica.

Los hidratos de carbono y los lípidos son los nutrientes principales a partir de los cuales las células obtienen la energía necesaria para su actividad vital y, por lo tanto, las enzimas que actúan en el catabolismo de estos nutrientes controlan la velocidad a la que debe transcurrir su degradación con el objeto de ajustarla a las necesidades energéticas de una situación determinada (alimentación, ayuno, ejercicio, etc.). Así pues, estas enzimas son un buen

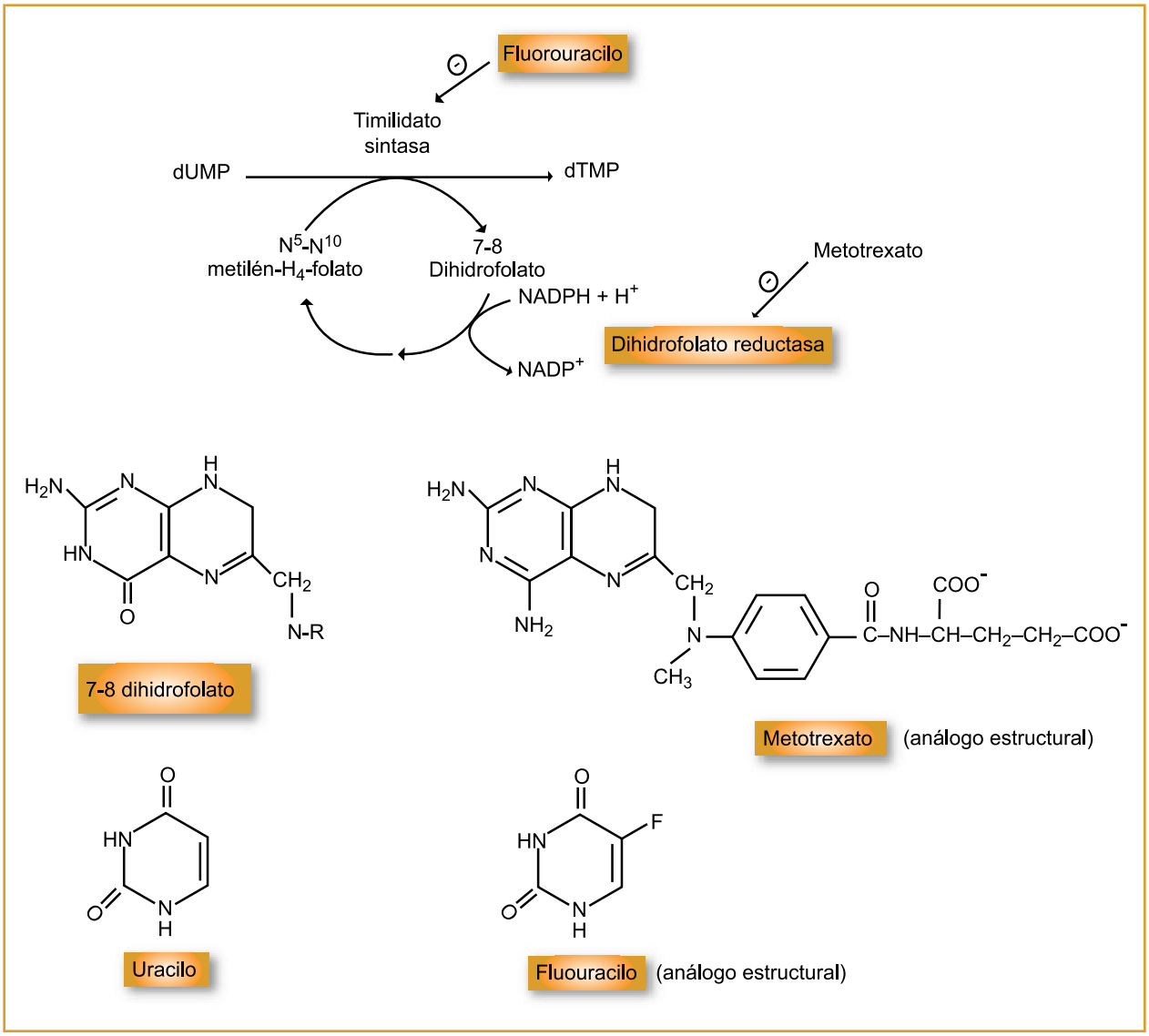


Figura 12. *Inhibición de la síntesis del nucleótido de timina (dTMP) por los agentes quimioterapéuticos metotrexato y fluorouracilo.*

ejemplo para entender la importancia que tiene este mecanismo de control enzimático.

La oxidación aeróbica de hidratos de carbono y lípidos confluye en el ciclo de Krebs (*ver Capítulo 1.2, apartado 3.2.2*), donde el acetil-CoA se oxida hasta CO_2 liberando energía que se conserva en los transportadores de electrones NADH y $FADH_2$. La oxidación de estos últimos libera los hidrógenos en forma de protones (H^+) y electrones que se transfieren finalmente al oxígeno, liberándose una energía que a través de la fosforilación oxidativa se conserva en forma de ATP:

$$\mathbf{E + P + ADP \rightarrow ATP}$$

Una relación ATP/ADP, NADH/NAD^+ o $FADH_2$/FAD mayor de la unidad significa que existe una alta carga energética en la célula.

Cualquier cambio que se produzca en la relación ATP/ADP o NADH/NAD^+ produce a su vez cambios en la actividad de las enzimas que controlan el ciclo de Krebs. De esta manera, el ATP y el NADH se constituyen en moduladores negativos que inducen una disminución de la velocidad del ciclo cuando la célula dispone de un alto nivel energético. Al con-

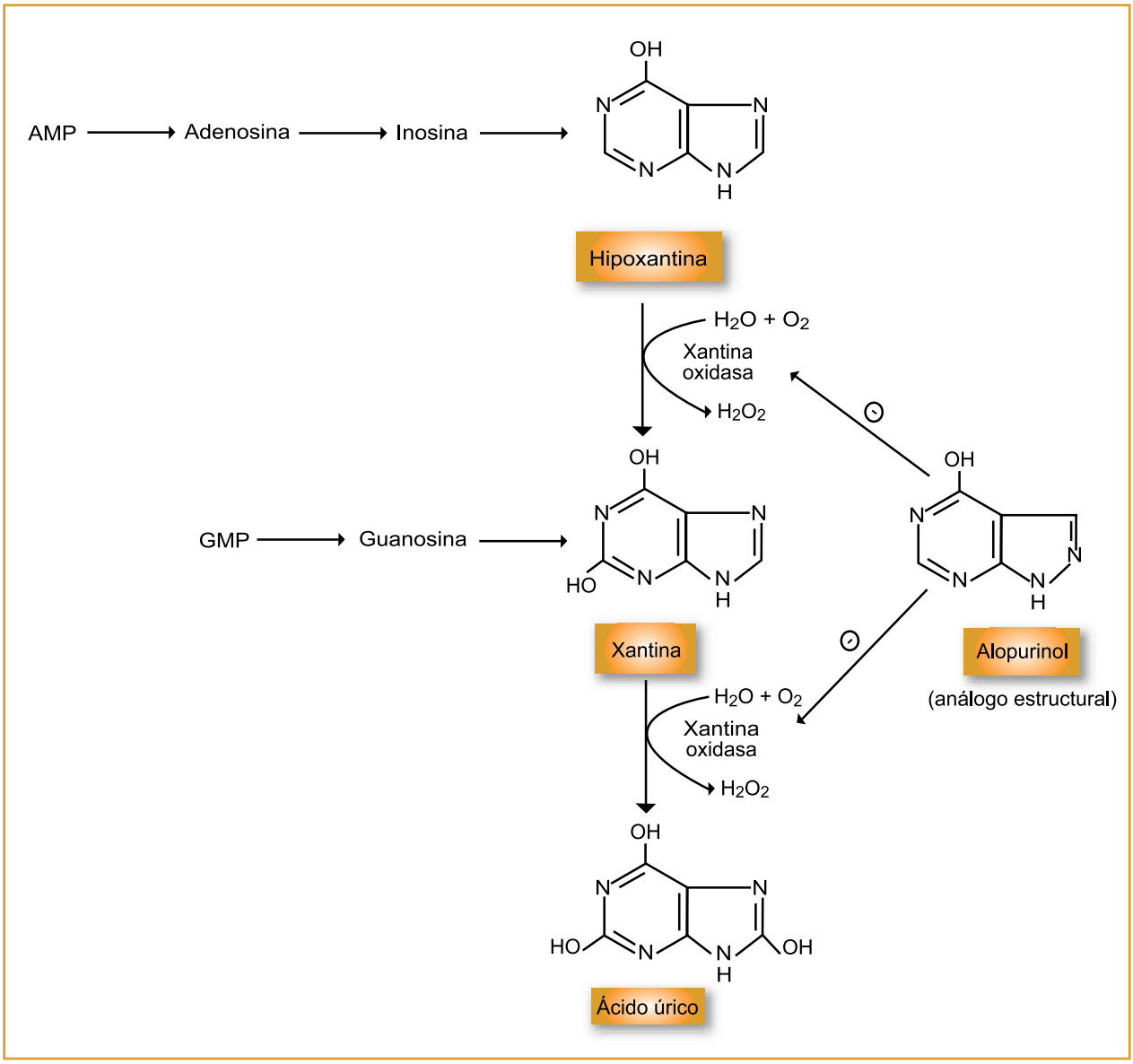


Figura 13. *Mecanismo de acción del alopurinol, un fármaco eficaz en el control de la hiperuricemia.*

trario, el ADP o el NAD^+ actúan modulando positivamente las enzimas del ciclo de Krebs, dando como resultado un aumento en la velocidad de esta ruta que tiende a compensar de esta manera el déficit energético manifestado por un descenso en [ATP] y [NADH] y un aumento en [ADP] y [NAD^+]. De esta manera, la velocidad del ciclo se ajusta con precisión para satisfacer en cada momento las necesidades celulares de ATP.

Los puntos más importantes del control del ciclo son las enzimas alostéricas isocitrato deshidrogenasa y α-cetoglutarato deshidrogenasa **(Figura 14)**. La primera de ellas se activa por el ADP y se inhibe por el ATP y el NADH. La actividad de la segunda se inhibe por el ATP y NADH, así como por el producto de su reacción, el succinil-CoA. De esta manera, el control de la velocidad a la que transcurre el ciclo de Krebs permite mantener las concentraciones de ATP adecuadas a cualquier situación metabólica.

La oxidación aeróbica de la glucosa se hace a través del ciclo de Krebs mediante la conversión del piruvato en acetil-CoA. Esta reacción está cataliza-

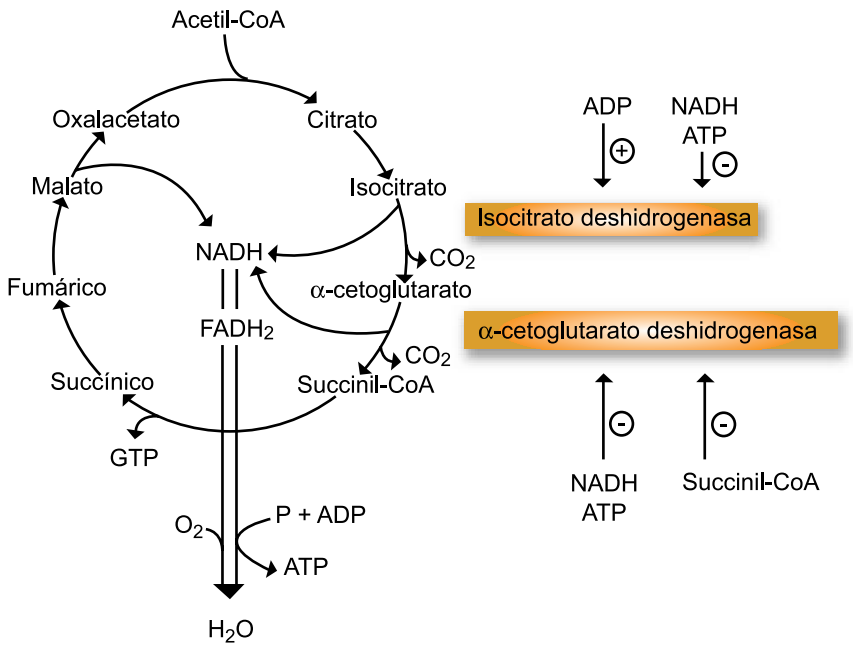


Figura 14. *Mecanismo del control alostérico por el ATP y NADH del ciclo de Krebs.*

da por el complejo enzimático piruvato deshidrogenasa que está formado por varias subunidades de tres enzimas diferentes: piruvato deshidrogenasa (E_1), dihidrolipoil transacetilasa (E_2) y dihidrolipoil deshidrogenasa (E_3) (*ver Capítulo 1.21, apartado 2.3*). El número de subunidades de cada una de estas enzimas depende del tipo de organismo vivo al que pertenezcan, pero en cualquier caso forma un complejo enorme de masas moleculares de entre 4 y 10 millones de Da. La reacción por la que el piruvato se descarboxila y se convierte en acetil-CoA necesita, además, del concurso de cinco coenzimas diferentes: coenzima A, NAD^+, FAD, ácido lipoico y pirofosfato de tiamina (TPP) **(Figura 15)**.

Esta reacción constituye un punto crítico del metabolismo de la glucosa por el que se dirigen los átomos de carbono hacia el ciclo de Krebs, bien para su oxidación hasta CO_2, o bien para su incorporación a los lípidos a través de la síntesis de ácidos grasos. Es por esta razón por lo que la enzima está estrictamente regulada a través de dos mecanismos: modificación alostérica y modificación covalente.

Los productos de esta reacción, acetil-CoA y NADH, producen una inhibición alostérica de la enzima, uniéndose el primero al componente E_2 y el segundo al componente E_3.

En los eucariotas, el complejo de la piruvato deshidrogenasa se inhibe además cuando se fosforila de forma reversible un grupo hidroxilo de un aminoácido serina del componente E_1. La fosforilación reversible se lleva a cabo por una piruvato deshidrogenasa kinasa y una piruvato deshidrogenasa fosfatasa, ambas componentes del complejo piruvato deshidrogenasa.

La enzima piruvato deshidrogenasa kinasa se activa alostéricamene por el ATP y, cuando sucede esto, su actividad supera a la de la piruvato deshidrogenasa fosfatasa con el resultado neto de la fosforilación del complejo piruvato deshidrogenasa que se inactiva. La piruvato deshidrogenasa fosfatasa se regula a su vez por los niveles de Ca^{2+} intramitocondrial que actúan como un modulador positivo de la enzima; en este caso, la actividad de la fosfatasa supera a la de la kinasa, y el complejo piruvato deshidrogenasa se desfosforila, activándose.

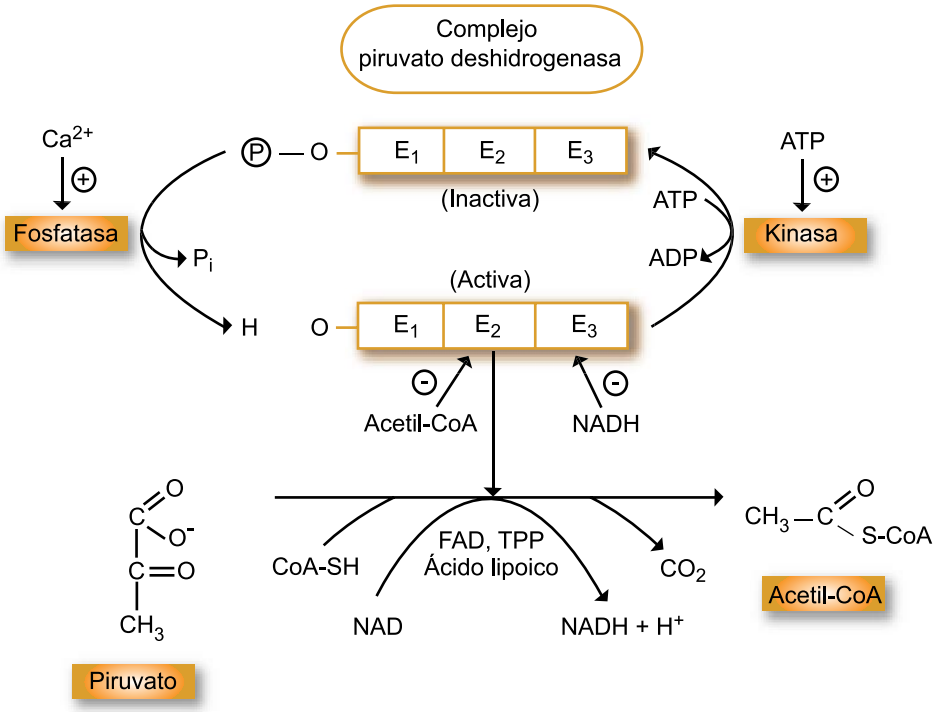


Figura 15. *El complejo piruvato deshidrogenasa se regula por mecanismos alostéricos a través de cambios en la concentración de acetil-CoA y NADH y por mecanismos de modificación covalente inducidos por cambios en la concentración de ATP y Ca^{2+}.*

Así pues, el complejo piruvato deshidrogenasa se desactiva cuando la carga energética de la célula es alta y se activa cuando descienden las concentraciones de ATP. El cambio de actividad del complejo enzimático responde también a factores externos a través de los cambios en la concentración de Ca^{2+} que se producen como consecuencia de la unión a receptores α-adrenérgicos en la membrana celular de hormonas que aceleran de esta manera la conversión del piruvato en acetil-CoA.

La oxidación de la glucosa no transcurre en todas las células de los animales superiores por mecanismos aeróbicos. El músculo esquelético mantiene una alta capacidad anaerobia de oxidación de la glucosa que le permite pasar de reposo a máxima actividad muscular en fracciones de segundo. En esta situación se requiere un mayor aporte de energía y, por lo tanto, un mayor consumo de glucosa y oxígeno. Para conseguirlo, el organismo debe realizar un ajuste cardiovascular y respiratorio para suministrar al músculo los nutrientes y el oxígeno en cantidad suficiente para soportar la actividad muscular. Sin embargo, este ajuste es un proceso que tarda minutos, tiempo que no se puede esperar ante una situación de peligro. Por esta razón, el músculo esquelético se dotó de un mecanismo por el que, independizándose del aporte exterior de glucosa y oxígeno, pudiese obtener energía a partir de glucosa endógena vía anaerobia, permitiéndose de esta forma pasar de reposo a máxima actividad en fracciones de segundo y así escapar de una situación de peligro.

Puesto que la oxidación anaerobia de la glucosa produce 18 veces menos energía que la oxidación aerobia, la gran cantidad de energía que se necesita para mantener la máxima actividad muscular se consigue en este caso aumentando la velocidad de su degradación, que puede llegar a ser cientos de veces superior, a través del aumento de la actividad

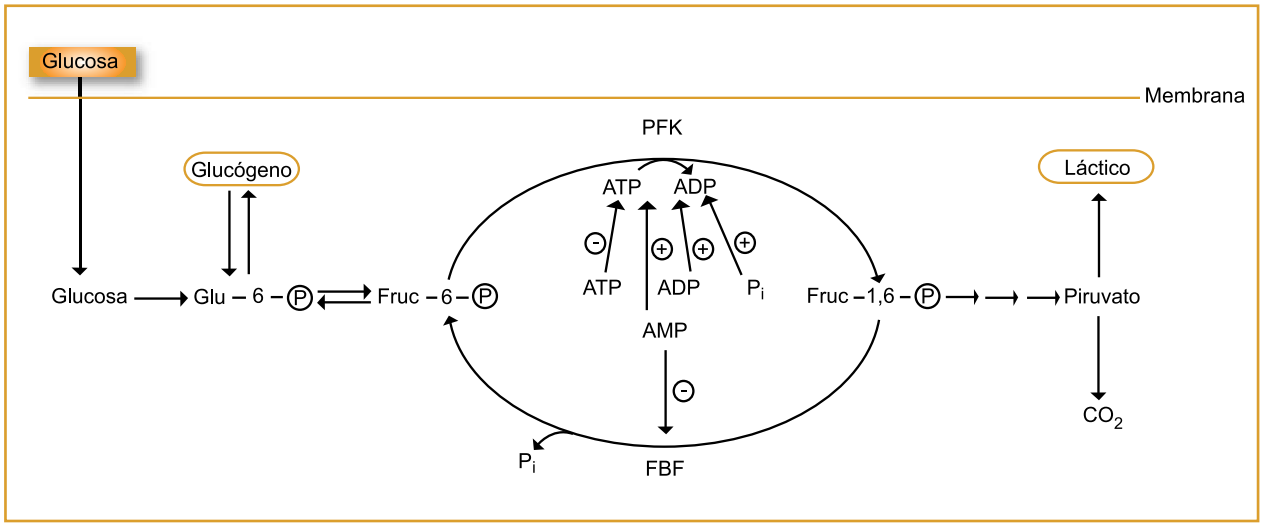


Figura 16. *El control de la velocidad de la degradación de glucosa en músculo esquelético se realiza a través de la modificación simultánea de las enzimas fosfofructokinasa (PFK) y fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBF).*

de las enzimas implicadas en la degradación anaerobia de la glucosa.

Una de las enzimas mejor estudiadas es la fosfofructokinasa (PFK) (*ver Capítulo 1.9*), que es una enzima reguladora alostérica multimodulada y que controla la velocidad de transformación de la fructosa-6-fosfato en fructosa 1-6-bisfosfato en el paso de reposo a máxima actividad de la siguiente manera **(Figura 16)**.

El ATP es un modulador negativo, mientras que el ADP y el P_i son moduladores positivos de la enzima PFK. Así pues, cuando se estimulan las reacciones que consumen ATP, como ocurre cuando se incrementa la actividad muscular, los niveles de ATP descienden y aumentan los productos de su degradación ADP y P_i. Por lo tanto, al descender la concentración de un inhibidor y aumentar la concentración de dos moduladores positivos se produce un aumento de la actividad de la enzima PFK y, consecuentemente, un aumento de la velocidad de la glucólisis para sintetizar ATP al ritmo necesario que satisfaga las mayores necesidades energéticas que demanda en este caso la fibra muscular.

En preparaciones musculares *in vitro* se ha observado que se puede producir un incremento cien veces mayor de la velocidad de la glucólisis con un descenso del contenido del ATP de sólo un 10%. La pregunta que hay que hacerse ante este dato experimental es si en realidad la magnitud del descenso en la concentración de ATP puede ser suficiente por sí sola para producir un aumento tan enorme de la velocidad de la glucólisis. Se ha calculado que para producir una variación en la actividad de una enzima, dependiente del ATP, desde un 10 a un 90% sería necesario que el modulador variara su concentración al menos en un 400%.

Por lo tanto, los cambios que se observan en el contenido de ATP en una fibra muscular de un músculo en actividad no pueden justificar por sí solos el gran incremento que se produce en la actividad de la PFK. Lo que en realidad ocurre es que los cambios en la concentración de ATP se relacionan en el músculo esquelético con los del AMP (adenosín monofosfato) a través de la siguiente reacción catalizada por la enzima adenilato kinasa:

$$2\ ADP \leftrightarrow ATP + AMP$$

La concentración de ATP en la fibra muscular es aproximadamente 50 veces mayor que la de AMP y, por lo tanto, pequeños descensos en la concentración de ATP producen, para mantener el equilibrio, grandes incrementos en la concentración de AMP. Este nucleótido es un potente modulador positivo de la enzima PFK y actúa de esta manera como un mecanismo de amplificación de la señal producida por los cambios en la concentración de ATP.

El fosfato inorgánico contribuye también de forma significativa estimulando la velocidad en la glucólisis, puesto que es un modulador positivo de la enzima PFK.

La hidrólisis del fosfato de creatina que ocurre durante la contracción muscular produce un incremento de la concentración de fosfato, suma de dos reacciones: **(1)** catalizada por la enzima creatina fosfokinasa y **(2)** producto de la contracción muscular.

(1) Creatín-P + ADP → ATP + creatina
(2) ATP → ADP + P_i

Creatín-P → creatina + P_i

El resultado neto de la ruptura de la creatina fosfato durante la contracción muscular es la producción de un incremento en la concentración de fosfato. De esta manera, actúa no sólo como reserva energética, sino también como una reserva de fosfato para la estimulación de la glucólisis.

Aunque el músculo no es un tejido donde se lleve a cabo la gluconeogénesis, sin embargo, la enzima gluconeogénica fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBF) sorprendentemente se encuentra presente en este tejido. Esta enzima, en este caso, no forma parte de una ruta gluconeogénica, sino que participa de forma importante en el control de la velocidad de la glucólisis. El papel regulador de la FBF se basa en sus propiedades cinéticas: posee una K_m muy baja para el sustrato, se inhibe por el AMP y, lo que es más importante, su actividad máxima es aproximadamente de un 2-10% de la máxima actividad de la PFK.

La existencia de esta enzima muscular hace que la fructosa-6-fosfato y la fructosa-1-6-bisfosfato queden conectadas por dos reacciones que actúan en sentidos contrarios, catalizadas por dos enzimas diferentes, de tal manera que la velocidad a la que se convierte la fructosa-6-fosfato en fructosa-1-6-bisfosfato depende en este caso de la actividad relativa de ambas enzimas.

Cuando se incrementa la actividad muscular, se produce un descenso en la concentración de ATP y un aumento consiguiente de las concentraciones de fosfato y AMP. Estos cambios en los nucleótidos producen un aumento de la actividad de la enzima PFK y, simultáneamente, se inhibe la enzima FBF, con lo que el resultado neto es que se produce, de forma inmediata, un incremento de la velocidad de la glucólisis debida a los cambios de los nucleótidos a través del control simultáneo de las dos enzimas implicadas en esta reacción.

4.4. Regulación por modificación covalente

Los mecanismos que se han descrito hasta ahora controlan o regulan los cientos de reacciones metabólicas que se producen en una célula, obedeciendo a señales que se producen como consecuencia de la propia actividad metabólica celular.

En los organismos pluricelulares los cambios en la actividad metabólica de una célula se producen además en respuesta a mensajes que se reciben de otras células a través del sistema endocrino, nervioso o paracrino, asegurándose de esta manera el funcionamiento ordenado del conjunto del organismo.

Uno de los mecanismos más importantes del control de la actividad enzimática que interviene en este proceso se realiza a través de reacciones de fosforilación/desfosforilación de las enzimas tal y como se ha expuesto en el apartado 3.5 de este Capítulo.

En realidad, este mecanismo forma parte de una serie de reacciones que se producen en cadena (cascada reguladora) y que se inicia en la superficie de la membrana celular.

Uno de los procesos que se regula mediante fosforilación/desfosforilación enzimática es la síntesis y degradación del glucógeno hepático o muscular en respuesta a hormonas tales como insulina, glucagón, adrenalina o noradrenalina. De esta manera, los organismos superiores se dotan de un mecanismo que les permite adaptarse a situaciones tales como el estrés o el ayuno.

El descenso de los niveles plasmáticos de nutrientes, fundamentalmente glucosa, que se produce en un ayuno, se detecta por el páncreas, el cual responde con un aumento de la liberación de glucagón y un descenso de la liberación de insulina.

Estas dos hormonas actúan como los primeros mensajeros que tras su unión a receptores específicos en la membrana celular producen cambios intracelulares de una molécula que actúa como segundo mensajero y que a su vez modifica la actividad de las enzimas proteína kinasas y fosfoproteína fosfatasas en una serie de reacciones en cascada que conduce finalmente a la fosforilación de las enzimas glucógeno fosforilasa y glucógeno sintasa (*ver Capítulos 1.5 y 1.9*). De esta manera, la enzima glucógeno fosforilasa se activa y la glucógeno sintasa se inactiva. Como consecuencia de este cambio

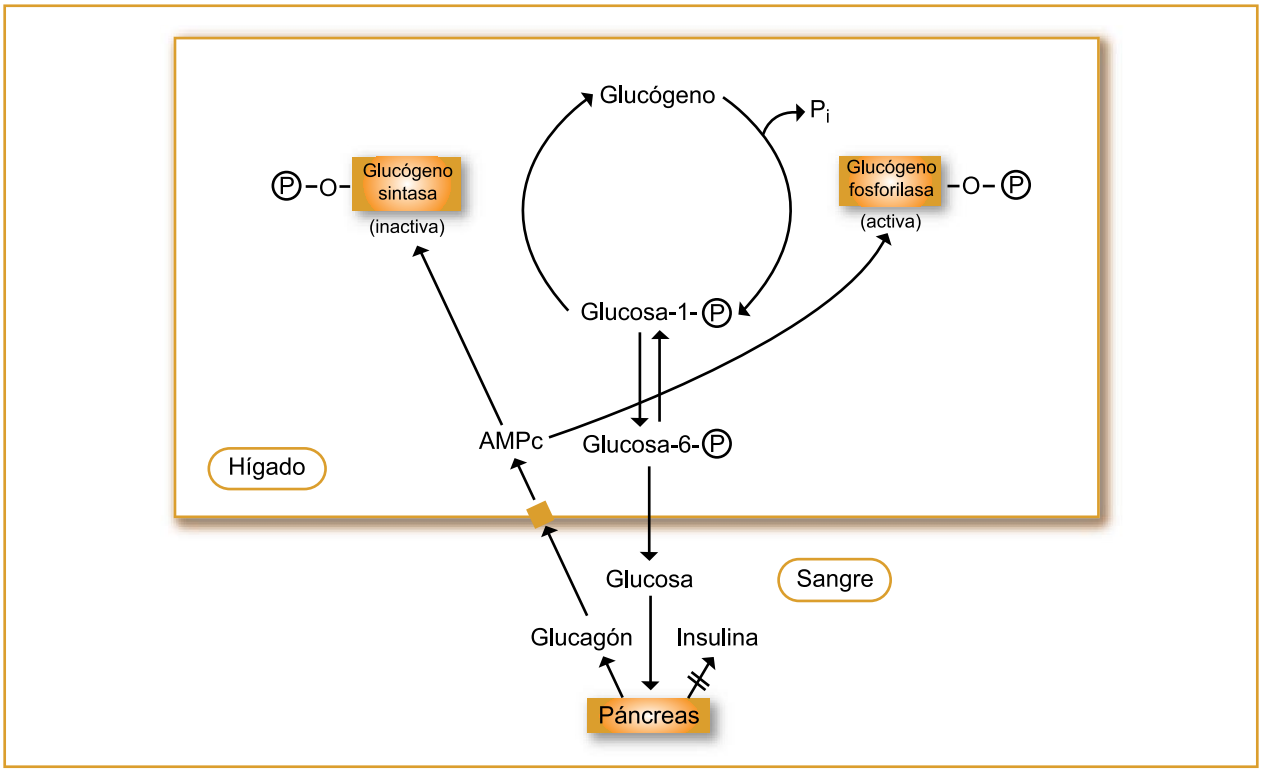


Figura 17. *Control hormonal de la glucogenólisis hepática en una situación de ayuno.*

de la actividad enzimática, la velocidad de degradación del glucógeno se hace superior a la de su síntesis **(Figura 17)**.

La respuesta neta al mensaje hormonal (aumento de la liberación de glucagón y descenso de la liberación de insulina) es que el glucógeno hepático almacenado se descompone proporcionando glucosa libre que se libera a la sangre, manteniéndose de esta manera la concentración plasmática en niveles de normalidad aun en situación de ayuno. Los detalles de este mecanismo de regulación se exponen en los Capítulos 1.9 y 1.17.

En una situación de estrés o de ayuno, no sólo responde el hígado suministrando al resto del organismo la glucosa necesaria para soportar estas situaciones, sino que el tejido adiposo colabora de manera fundamental, proporcionando otro nutriente de extraordinario valor energético como son los ácidos grasos. Gracias a esta contribución del tejido adiposo se puede soportar un ejercicio o un ayuno prolongado.

El mecanismo por el que el tejido adiposo responde liberando ácidos grasos en estas situaciones se realiza también mediante un proceso de fosforilación/desfosforilación de la enzima triglicérido lipasa. La liberación de ácidos grasos a partir de los triglicéridos (TG) almacenados en el tejido adiposo depende de dos reacciones:

1. Lipogénesis (síntesis de TG).

2. Lipólisis (degradación de TG) **(Figura 18)**.

Si la lipogénesis es mayor que la lipólisis, los ácidos grasos se acumulan en forma de TG. Si la lipólisis es mayor que la lipogénesis, se degradan los TG y los ácido grasos se liberan a la sangre.

La insulina tiene un potente efecto antilipolítico y lipogénico, mientras que la adrenalina y noradrenalina (median la respuesta al estés) o el glucagón (media la respuesta al ayuno) tienen efecto lipolíticos.

Los efectos lipolíticos se producen tras la unión de las hormonas a receptores específicos en la membrana del adipocito. Esta unión produce cambios intracelulares en la concentración de AMPc, que actúa como segundo mensajero que a su vez activa a la enzima proteína kinasa. De esta manera, la actividad de esta enzima se hace superior a la de la enzima proteína fosfatasa con el resultado neto de la fosforilación de la enzima triglicérido lipasa, que se activa.

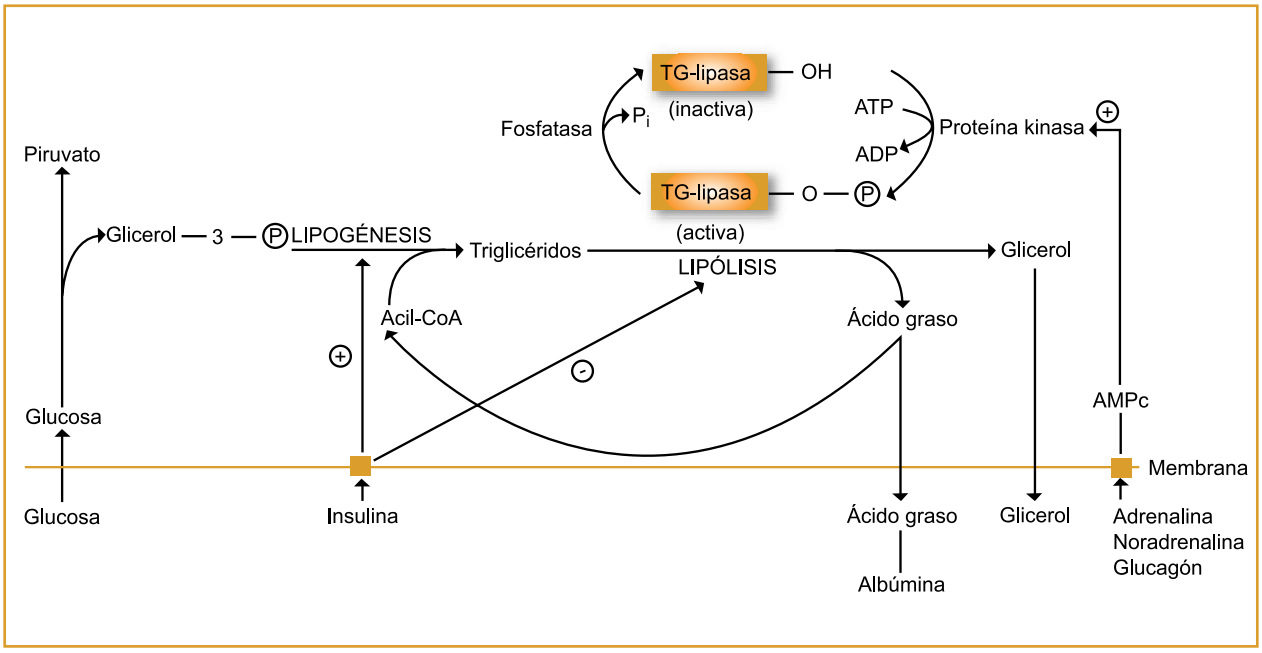


Figura 18. *Control hormonal de la enzima triglicérido lipasa en tejido adiposo.*

En una situación de ayuno, el sistema funcionaría de la siguiente manera: el descenso de los niveles plasmáticos de glucosa es interpretado por el páncreas con una disminución en la liberación de insulina y un aumento de la liberación de glucagón. El efecto lipogénico y antilipolítico de la insulina, en este caso, es inferior al efecto lipolítico del glucagón, con lo que la velocidad de la lipólisis se hace superior a la de la lipogénesis, liberándose los ácidos grasos a la sangre. De esta manera, el tejido adiposo suministra al resto del organismo un extraordinario material energético con el que subsistir en una situación de ayuno muy prolongado.

Estos ejemplos (control de la glucogenólisis hepática y de la lipólisis en tejido adiposo) son sólo dos de las más de 5.000 proteínas que controlan su actividad biológica a través de mecanismos de modificación covalente (*ver apartado 3.5 de este Capítulo*) y entre las que se encuentran las proteínas que intervienen en el control de procesos tan importantes y transcendentes como la diferenciación y la división celular.

En definitiva, este importante mecanismo constituye la base del control nervioso y hormonal del metabolismo y, por lo tanto, la base molecular que subyace en el proceso de coordinación que ha permitido que sobrevivan y se perfeccionen, a través de un complejo proceso evolutivo, los organismos pluricelulares.

5. Resumen

- El mantenimiento de la homeostasis es, para un ser vivo, una necesidad básica para responder a cambios tanto ambientales como internos y a los requerimientos de las diferentes fases de su ciclo vital.

- La principal herramienta para el mantenimiento del medio interno es la regulación de la actividad enzimática.

- En algunas patologías existen factores que actúan sobre estos mecanismos, y en un porcentaje alto de enfermedades aparecen en uno u otro momento de su desarrollo disfunciones en el proceso regulador.

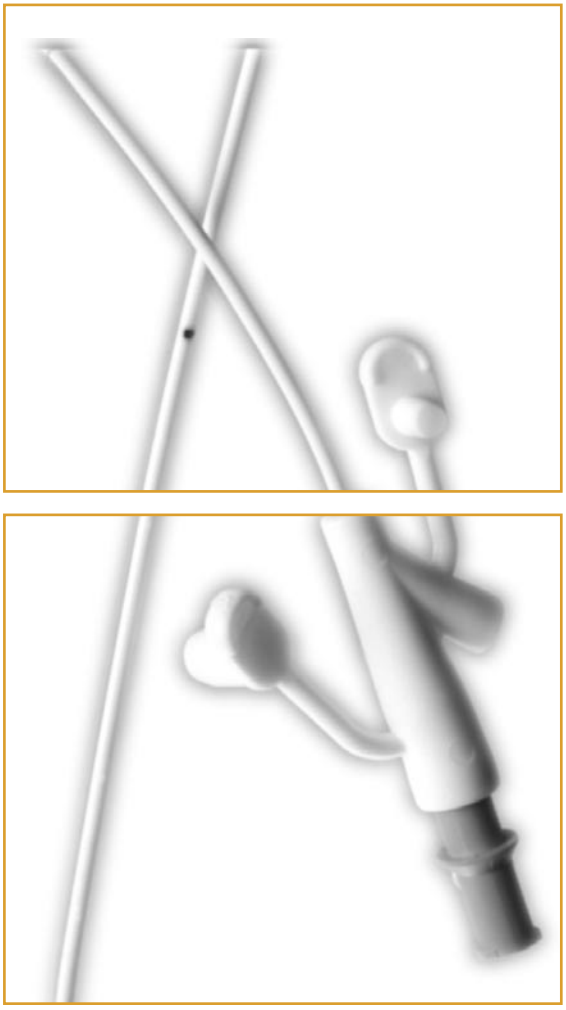
- Agentes patógenos actúan alterando el metabolismo de las células blanco, por ejemplo, introduciendo en ellas enzimas reguladoras alternativas, que eluden los mecanismos reguladores. El cólera y la peste actúan de esa forma.

- Muchos fármacos basan su mecanismo de acción en la modificación de la actividad de enzimas: antihiperuricémicos, antibióticos y estatinas son buenos ejemplos.

- En este Capítulo se describe la existencia de mecanismos de regulación enzimática de tipo pasivo. Las enzimas no son modulables, aunque la organización de las rutas lo posibilita. Incluso las enzimas no reguladoras participan en la regulación por varios mecanismos: la disponibilidad de sustrato; la cinética de la enzima; la mayoría de las rutas son irreversibles; las rutas bidireccionales poseen una ΔG próxima a 0; coenzimas diferentes para procesos distintos; la compartimentalización a nivel subcelular.

- Los sistemas de regulación activos son, sin duda, más importantes y eficientes. Los más elementales son los mecanismos de inhibición, competitiva, no competitiva y acompetitiva. La cantidad de enzima presente en cada momento en la célula, regulada por su síntesis y degradación, es, por sí misma, un mecanismo regulador. Los más efectivos y conocidos sistemas de regulación son los que modifican la actividad catalítica de una enzima: alosterismo y regulación covalente. Otros sistemas similares pero restringidos a algunos sistemas concretos como la unión del AMPc y las proteína kinasas o el calcio, que actúa sobre la calmodulina, también tienen importancia. Finalmente, se ha de reseñar la presencia de enzimas que, sintetizadas y liberadas en forma inactiva, son activadas mediante un mecanismo proteolítico.

- En el apartado 4 de este Capítulo se incluyen ejemplos de mecanismos de regulación enzimática, importantes, no sólo por su intervención en el control de la actividad metabólica de los organismos vivos, sino por la trascendencia que algunos de estos mecanismos han tenido en el conocimiento de la estructura del centro activo de algunas enzimas, la obtención de datos para el establecimiento de ciertas rutas metabólicas y el diseño racional de fármacos.



6. Bibliografía

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L Biochemistry, 5th ed. W.H. Freeman and Company. New York, 2002.
Otro gran texto clásico de Bioquímica. No ha evolucionado tanto como otros libros generales, aunque conserva algunos capítulos muy bien expuestos.

Brody T. Nutritional Biochemistry, 2nd ed. Academic Press. San Diego, California, 1999.
Un buen libro para nutriólogos interesados en la Bioquímica.

Devlin T (ed.). Textbook of Biochemistry Wiley-Lyss, 5th ed. Danvers MA, 2002.
Uno de los textos más completos de Bioquímica que existen.

Elliott HE, Elliott DC. Biochemistry and Molecular Biology, 2nd ed. Oxford University Press. New York, 2001.
Un manual pequeño y manejable, pero completo.

Garret RH, Gisham CM. Biochemistry, 2nd ed. Saunders College Publishing. Orlando, Florida, 1999.
Texto claro y manejable.

Goodsell DS. Our Molecular Nature. Springer-Verlag. New York, 1996.
Un texto breve y original en el que se describe con mucha claridad el nivel molecular de un organismo vivo.

Mathews CK, Van Holde KE, Ahern KG. Biochemistry. Addison Wesley Longman. San Francisco, 2000.
El mejor texto para entender los aspectos más físico-químicos de la materia expuesta.

McKee T, McKee JR. Bioquímica. McGraw-Hill. Madrid, 2003.
Libro completo, bien traducido al castellano.

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry, 25th ed. Appleton & Lange. Stanford, Connecticut, 2000.
Texto muy orientado a la enseñanza médica, completo y relativamente comprimido.

Nelson DL, Cox MC. Lehningher Principles of Biochemistry, 3rd ed. Worth Publisher. New York, 2002.
Versión contemporánea del mítico libro de Albert Lehningher.

Ochs RS, Hanson RW, Hall J. Metabolic Regulation. Elsevier Science Publishers. Amsterdam, 1985.
Uno de los pocos textos dedicados exclusivamente a la regulación del metabolismo.

Voet D, Voet JG, Pratt CW. Fundamentals of Biochemistry. John Wiley & Sons, Inc. Danvers MA, 1999.
Un libro completo de Bioquímica.

7. Enlaces web

- web.indstate.edu/thcme/mwking/enzyme-kinetics.html
- www.botany.uwc.ac.za/mirrors/MIT-bio/bio/eb/ebdir.html
- njms.umdnj.edu/biochemistry/education/bioweb/KumarFiles/Kumar-Dental/RegulationOfEnzymeActivity.ppt
- www.biochemistry.org/
- www.um.es/~molecula/indice.htm
- www.med.unibs.it/~marchesi/

1.4. Comunicación intercelular: hormonas, eicosanoides, factores de crecimiento y citokinas

Ángel Gil Hernández ■ Fermín Sánchez de Medina Contreras

Capítulo 1.4.

Comunicación intercelular: hormonas, eicosanoides, factores de crecimiento y citokinas

1. Introducción

2. Hormonas

2.1. Naturaleza química
2.2. Síntesis celular
2.3. Transporte sanguíneo
2.4. Mecanismos de acción
2.5. Hormonas esteroideas
2.6. Catecolaminas y hormonas tiroideas
2.7. Hormonas formadas a partir de precursores proteicos

3. Eicosanoides

3.1. Biosíntesis
3.2. Mecanismo de acción
3.3. Catabolismo
3.4. Efectos biológicos
3.5. Implicaciones fisiopatológicas
3.6. Eicosanoides y dieta
3.7. Regulación de la agregación plaquetaria

4. Factores de crecimiento y citokinas

4.1. Familia del factor de crecimiento epidérmico (EGF: ***E****pidermal* ***G****rowth* ***F****actor*)
4.2. Familia del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF: ***P****latelet-* ***D****erived* ***G****rowth* ***F****actor*)
4.3. Familia del factor de crecimiento transformante β (TGF-β: ***T****ransforming* ***G****rowth* ***F****actor*-β)
4.4. Sistema de factores de crecimiento análogos a la insulina (IGF: ***I****nsulin-like* ***G****rowth* ***F****actor*)
4.5. Superfamilia de citokinas relacionadas con el factor de necrosis tumoral (TNF: ***T****umour* ***N****ecrosis* ***F****actor*)
4.6. Interleukinas
4.7. Quimiokinas
4.8. Otras citokinas

5. Resumen

6. Bibliografía

7. Enlaces web

Objetivos

- Comprender la necesidad de la comunicación intercelular en los organismos pluricelulares.
- Conocer la naturaleza de los mediadores químicos que llevan a cabo las funciones de comunicación.
- Conocer las principales características del sistema endocrino, fundamentalmente las más relacionadas con el metabolismo y la nutrición.
- Entender el origen nutricional y metabólico de los eicosanoides, así como los principales aspectos de sus funciones.
- Comprender los procesos bioquímicos fundamentales que tienen lugar durante la agregación plaquetaria.
- Conocer los conceptos de factor de crecimiento y citokina.
- Clasificar los principales factores de crecimiento y citokinas, según sus funciones biológicas.
- Comprender el concepto de quimiokina, así como sus funciones principales.

1. Introducción

Dada la complejidad de los organismos pluricelulares, se necesita una buena comunicación intercelular para regular el metabolismo, el crecimiento y otras funciones de los distintos órganos y tejidos. Se trata de una red muy compleja de señales que va conociéndose poco a poco. Son muchos los compuestos químicos implicados en la comunicación intercelular y muy diversos también los mecanismos intracelulares de respuesta. Las alteraciones en las redes de señalización originan enfermedades tan importantes como el cáncer o la diabetes.

Las señales intercelulares de comunicación mejor conocidas son las hormonas. Desde el punto de vista de su mecanismo de señalización, se pueden clasificar en liposolubles (hormonas esteroideas, calcitriol y hormonas tiroideas) e hidrosolubles (proteínas, péptidos y derivados de aminoácidos). Las primeras pueden atravesar las membranas y son reconocidas en el interior celular por receptores citoplasmáticos o nucleares, actuando finalmente sobre la transcripción del DNA y modulando, por tanto, la síntesis de proteínas específicas. Las hormonas hidrosolubles interaccionan con receptores de membrana, desencadenando mecanismos complejos a través de numerosas proteínas adaptadoras y enzimas fosforilantes o defosforilantes, que terminan por regular vías metabólicas citoplasmáticas o, en ocasiones, actuando también sobre el DNA, modulando la síntesis de proteínas específicas.

Los eicosanoides son derivados de ácidos grasos poliinsaturados de 20 átomos de carbono, especialmente araquidónico y eicosapentaenoico. Comprenden muchos tipos de moléculas como las prostaglandinas, prostaciclinas, tromboxanos y leucotrienos. Aunque derivan de ácidos grasos, no son muy liposolubles, por lo que actúan fundamentalmente sobre receptores de membrana.

Mientras que las señales hormonales funcionan de manera endocrina, actuando sobre células lejanas a las que las producen, los factores de crecimiento, las citokinas, los eicosanoides y los neurotransmisores actúan de manera paracrina (sobre células vecinas) o autocrina (sobre la misma célula productora). Los factores de crecimiento y diferenciación son de naturaleza proteica y actúan siempre sobre receptores de membrana. Lo mismo ocurre con las citokinas, que son factores de crecimiento originados fundamentalmente en los leucocitos y que están implicados en la respuesta inflamatoria, la inmunidad y la hematopoyesis. Es interesante subrayar que existe un cierto solapamiento entre hormonas, factores de crecimiento y citokinas. Así, la insulina, la hormona de crecimiento y la eritropoyetina son hormonas pero tienen mecanismos de acción y efectos semejantes a los factores de crecimiento. Existe, sin embargo, una clara distinción entre ambos tipos de moléculas. Al contrario que las hormonas, los factores de crecimiento y las citokinas se elaboran en muchos tipos distintos de tejidos y suelen actuar conjuntamente sobre una misma célula. Es interesante resaltar también que algunas moléculas del grupo pueden actuar en ocasiones como señaladores de apoptosis (muerte celular programada).

El objetivo del presente Capítulo es exponer el sistema de comunicaciones intercelulares mediado por hormonas, eicosanoides, factores de crecimiento y citokinas. Se hará hincapié especialmente en este último grupo de moléculas, cuyo reciente desarrollo se traduce en una menor cantidad de fuentes bibliográficas asequibles en español.

2. Hormonas

Las hormonas se han definido clásicamente como compuestos químicos producidos por determinadas células específicas (glándulas endocrinas), que son transportados por el sistema circulatorio a otras células lejanas sobre las que actúan (células diana). La acción hormonal es posible porque las células diana tienen receptores capaces de reconocer la señal. Una sola hormona puede actuar sobre varios tipos de células diana y provocar varias respuestas metabólicas o fisiológicas. Al mismo tiempo, una célula diana puede recibir varias señales hormonales. En la actualidad, se conocen más de 50 hormonas cuyas acciones están bastante bien establecidas. Gran parte de ellas están organizadas jerárquicamente bajo el control del hipotálamo. Este órgano cerebral está en íntima conexión con la hipófisis, de manera que la liberación por el hipotálamo de las hormonas llamadas liberadoras origina la secreción de hormonas hipofisarias. Las hormonas liberadas en la neurohipófisis (vasopresina, oxitocina) actúan directamente sobre las células diana. En cambio, las hormonas de la adenohipófisis, denominadas genéricamente tropinas, desencadenan la liberación de hormonas por otras glándulas endocrinas (suprarrenales, tiroides, gónadas, etc.). Estas hormonas pueden ya actuar sobre las células diana, aunque en algunos casos pueden producirse aún derivados hormonales en determinados tejidos (p. ej., la formación de estradiol en el tejido adiposo) **(Figura 1)**.

Existe una estrecha relación entre el sistema hormonal y el sistema nervioso. Así, el control jerárquico hipotalámico está sujeto a su vez a regulación nerviosa, ya que el propio hipotálamo es un órgano neuroendocrino cuya actividad puede ser desencadenada por múltiples situaciones de estrés (siendo el resultado final una producción importante de cortisol). En estos casos, también se afecta directamente por vía nerviosa la médula suprarrenal, con liberación de catecolaminas.

2.1. Naturaleza química

Un importante número de hormonas son compuestos químicos de tipo esteroide y derivan metabólicamente del colesterol. Entre ellas, se encuentran los glucocorticoides, mineralocorticoides, gestágenos, andrógenos y estrógenos. También puede incluirse en este grupo al calcitriol (también llamado 1,25-dihidroxi-colecalciferol u hormona D).

Otras hormonas derivan del aminoácido tirosina. Las catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) son compuestos muy sencillos originados inicialmente por descarboxilación de la tirosina. La formación de las hormonas tiroideas es mucho más compleja, porque exige la formación de proteínas precursoras y la incorporación de yodo a los anillos fenólicos.

El resto de las hormonas son péptidos o proteínas. Algunas, como la TRH (hormona liberadora de tirotropina), son oligopéptidos muy pequeños. En otros casos (somatostatina, glucagón, insulina y ACTH -hormona adrenocorticotropa-), se trata de polipéptidos de gran tamaño, algunos de los cuales pueden considerarse también como proteínas. Por último, existen hormonas que son proteínas de peso molecular considerable, como la hormona de crecimiento (GH), la prolactina, las gonadotropinas y la hormona estimulante de la tirotropina (TSH). Estas últimas (gonadotropinas y TSH) son glicoproteínas.

2.2. Síntesis celular

La mayor parte de las hormonas se sintetizan en las glándulas endocrinas (tiroides, adrenes, hipófisis, etc.). Como ya se ha mencionado, en algunos casos se pueden sintetizar hormonas en tejidos que no han sido considerados clásicamente como glándulas endocrinas. Esto es lo que ocurre con la síntesis de estradiol en el tejido adiposo, la de dihidrotestosterona en la glándula prostática o la de la hormona tiroidea T_3 en muchos tejidos periféricos. En ocasiones, la síntesis de la hormona tiene lugar con

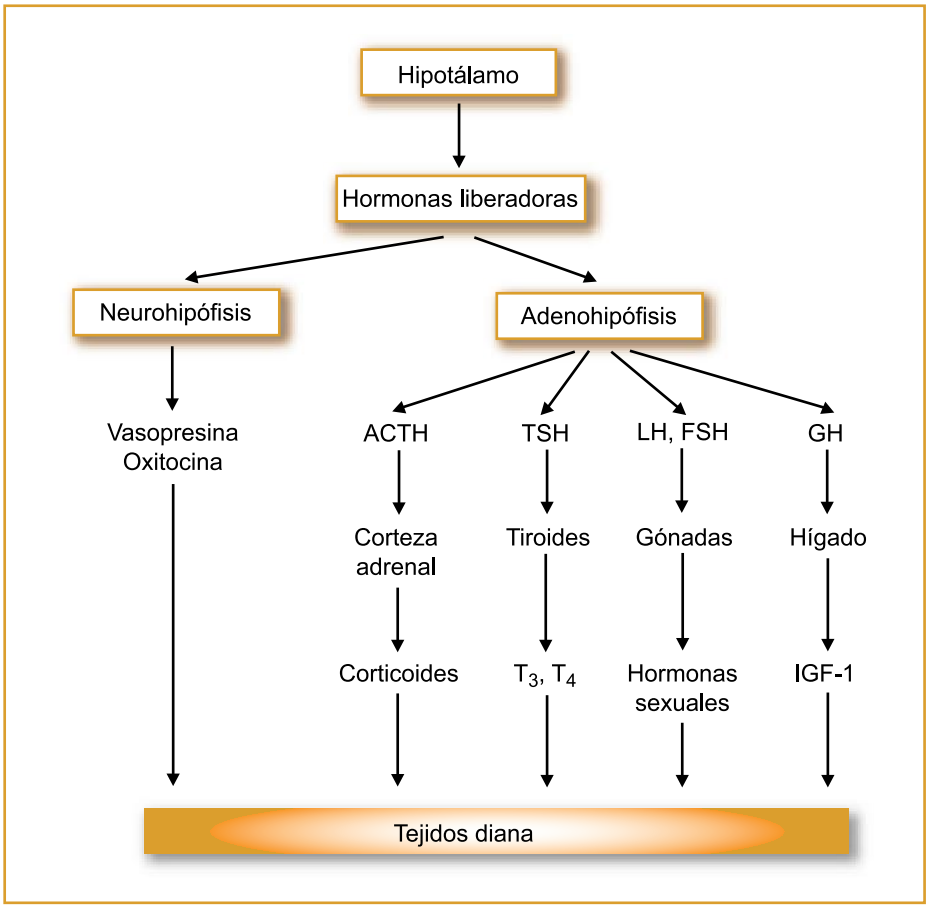


Figura 1. *Esquema simplificado de la organización jerárquica en el sistema endocrino. ACTH: hormona adrenocorticotropa; FSH: hormona estimulante de los folículos; GH: hormona del crecimiento; LH: hormona luteínica; TSH: hormona estimuladora del tiroides; T_3 y T_4: hormonas tiroideas; IGF-1: factor de crecimiento análogo a la insulina-1.*

la colaboración de varios tejidos. Así, el derivado hormonal de la vitamina D (1,25-dihidroxi-colecalciferol o calcitriol) se produce a partir del colecalciferol formado bajo la piel mediante dos reacciones de hidroxilación llevadas a cabo en hígado y riñón (*ver Capítulo 1.24*).

Una vez sintetizadas, algunas hormonas, como por ejemplo las hormonas esteroideas, se liberan de inmediato a la circulación sanguínea. Otras se almacenan en la glándula endocrina antes de su liberación. Así, las catecolaminas y la hormona paratiroidea se almacenan durante horas tras su síntesis, la insulina se almacena durante varios días y las hormonas tiroideas pueden permanecer en el tiroides varias semanas.

Lógicamente, la síntesis de una hormona es un proceso muy regulado. En las hormonas del eje hipotálamo-hipófisis **(Figura 1)**, la señal para realizar la síntesis de una hormona procede de la hormona liberadora precedente. Así, la síntesis del cortisol en la corteza suprarrenal se produce por la acción de la ACTH. En otros casos, la síntesis hormonal o la liberación a la sangre se desencadenan por estímulos metabólicos. Éste es el caso del glucagón, que se libera a la sangre cuando hay hipoglucemia.

Las señales de cese se producen generalmente por retroalimentación negativa. Por ejemplo, cuando aumentan los niveles de cortisol en sangre se produce una disminución de la secreción hipofisaria de ACTH y de la secreción hipotalámica de hormona liberadora de corticotropina (CRH).

Además de estos mecanismos intrínsecos de regulación, existe un control adicional de tipo nervioso, como ya se ha comentado previamente.

2.3. Transporte sanguíneo

Las hormonas esteroideas y las hormonas tiroideas son liposolubles, por lo que necesitan el concurso de proteínas de transporte para su circulación sanguínea. No así las catecolaminas y las hormonas de naturaleza peptídica y proteica, que son claramente hidrosolubles, con la excepción de la hormona IGF-1 (***I**nsulin-like **G**rowth **F**actor-**1***: factor de crecimiento semejante a la insulina 1), cuyo estudio detallado se hace más adelante en este mismo Capítulo (*ver apartado 4.4*). Es interesante resaltar que la actividad de las hormonas es nu-

la mientras se encuentran unidas a sus proteínas de transporte. La concentración sanguínea de estas proteínas resulta, por tanto, crucial en la regulación hormonal.

Las concentraciones hormonales en sangre son habitualmente muy bajas. Sin embargo, los receptores existentes en las células diana son capaces de unirse con mucha afinidad y eficacia a las hormonas correspondientes. Estas concentraciones no sólo dependen de las cantidades liberadas a la sangre por las glándulas endocrinas sino de la existencia de procesos de aclaramiento y metabolización por otros tejidos. Estos mecanismos son especialmente importantes en el caso de algunas hormonas esteroideas, que son metabolizadas en gran proporción por el hígado.

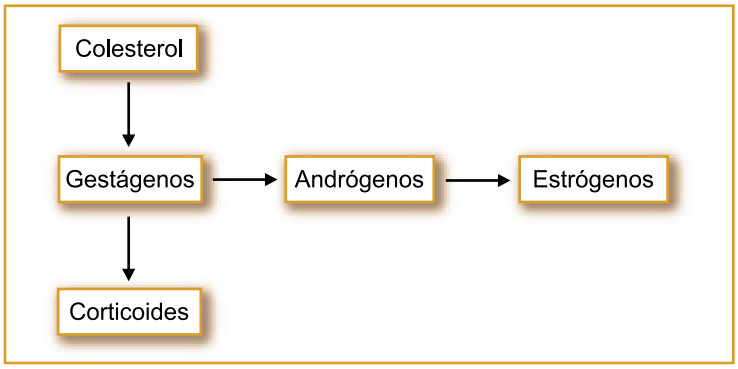


Figura 2. *Relaciones metabólicas generales entre las hormonas esteroideas.*

2.4. Mecanismos de acción

Las hormonas actúan uniéndose a receptores específicos en las células diana. El complejo hormona-receptor es capaz entonces de influir en la actividad celular, estimulando o inhibiendo determinadas funciones biológicas. Desde el punto de vista químico, los receptores son proteínas que tienen dos dominios funcionales, uno para unirse al receptor y otro para la realización de los efectos celulares.

Los receptores de las hormonas liposolubles (esteroideas, tiroideas y calcitriol) se encuentran en el citoplasma o en el núcleo. Tras su unión a la hormona interaccionan con zonas concretas del DNA para estimular o inhibir la síntesis de proteínas específicas (*ver Capítulo 1.7*).

Los receptores de las hormonas hidrosolubles se encuentran en la membrana celular. Tras su unión con la hormona se produce una "transducción de señales" de muy diverso tipo (*ver Capítulo 1.5*):

a) La insulina y el IGF-1 se unen a receptores con actividad tirosina-kinasa produciendo efectos proliferativos y metabólicos.

b) La hormona de crecimiento y la prolactina se unen a receptores sin actividad tirosina-kinasa pero capaces de estimular a proteínas con dicha actividad (sistema JAK/STAT), produciendo fundamentalmente efectos proliferativos.

c) Las demás hormonas peptídicas y proteicas, así como las catecolaminas, se unen a receptores ligados a las proteínas G, originando la producción de segundos mensajeros del tipo del AMP cíclico, iones calcio e inositol-trifosfato, y produciendo fundamentalmente efectos metabólicos.

2.5. Hormonas esteroideas

Las hormonas esteroideas derivan del colesterol. De una manera muy general, se puede establecer la relación de todas estas hormonas tal como se expresa en la **Figura 2**. Las primeras hormonas formadas a partir del colesterol son los gestágenos, siendo la progesterona el principal producto final de esta síntesis en el cuerpo lúteo. Los corticoides se forman a partir de los gestágenos en la corteza suprarrenal. Además, los gestágenos son también el origen de algunos andrógenos en este territorio celular. En los testículos, los gestágenos se metabolizan fundamentalmente a andrógenos. Por último, estas hormonas se transforman en estrógenos en los ovarios.

En todos estos tejidos, el proceso químico es básicamente idéntico. El colesterol procede sobre todo de las lipoproteínas sanguíneas, pero existe también una cierta síntesis endógena. La mayor parte de este colesterol se almacena en forma de colesterol esterificado en pequeñas gotas lipídicas. Para que comience la síntesis hormonal es necesario que los ésteres de colesterol sean hidrolizados por una esterasa. Es precisamente esta enzima uno de los puntos de actuación de las hormonas responsables de la correspondiente estimulación glandular: la ACTH en la corteza suprarrenal y la LH en las gónadas. Estas hormonas también estimulan la síntesis de una pro-

teína denominada StAR (***St****eroidogenic* ***A****cute* ***R****egulatory protein,* o proteína que regula la acción aguda de los esteroides). La función de esta proteína es transportar el colesterol al interior de la mitocondria, donde es metabolizado a pregnenolona por la enzima conocida como P-450scc (*cytochrome* ***P-450 s****ide* ***c****hain* ***c****leavage enzyme,* o enzima que cataboliza el corte de la cadena lateral del colesterol) y que está ligada al citocromo P-450. El resto de las reacciones que permiten la síntesis de las demás hormonas esteroideas transcurre tanto en el interior mitocondrial como en el retículo endotelial.

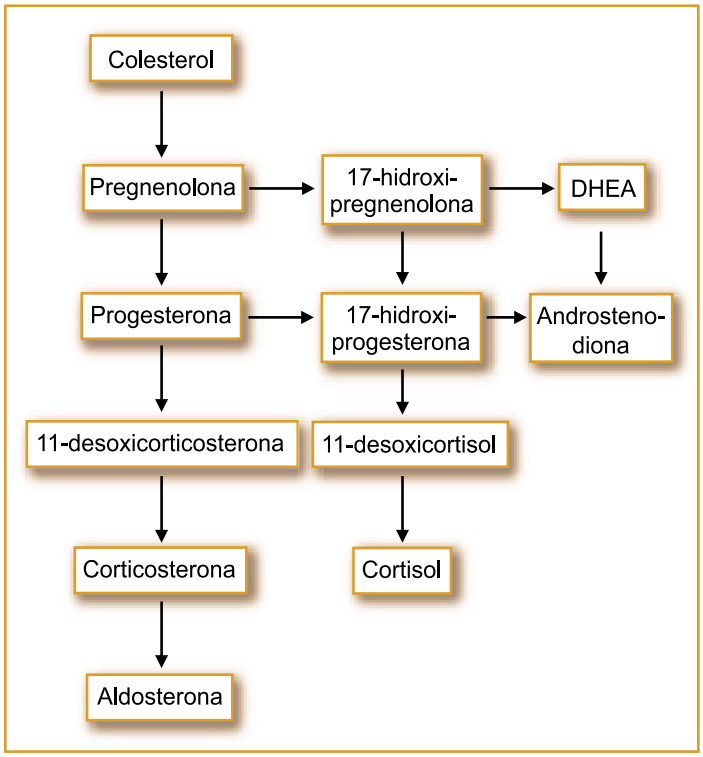


Figura 3. *Síntesis de hormonas esteroideas en la corteza suprarrenal. DHEA: deshidroepiandrosterona.*

2.5.1. Síntesis de hormonas esteroideas en la corteza suprarrenal

En la corteza suprarrenal se sintetizan mineralocorticoides (aldosterona), glucocorticoides (cortisol) y andrógenos (androstenodiona y deshidroepiandrosterona), de acuerdo con las vías enzimáticas descritas en la **Figura 3**. La aldosterona se sintetiza únicamente en la zona glomerular, donde existen unas enzimas que catalizan la hidroxilación y deshidrogenación en el carbono 18. Estas enzimas son estimuladas fundamentalmente por la angiotensina II y los iones potasio. El cortisol se forma en las zonas fascicular y reticular por la acción de enzimas que introducen hidroxilos en los carbonos 17, 11 y 21. Para la síntesis de los andrógenos se necesita el concurso de una enzima que separa la cadena lateral del carbono 20 con formación de un grupo cetónico. El principal andrógeno originado en la corteza suprarrenal es la deshidroepiandrosterona (DHEA). Además de su actividad androgénica, esta hormona se caracteriza porque es liberada en gran cantidad a la sangre y es transportada a otros tejidos, donde puede originar testosterona y estradiol.

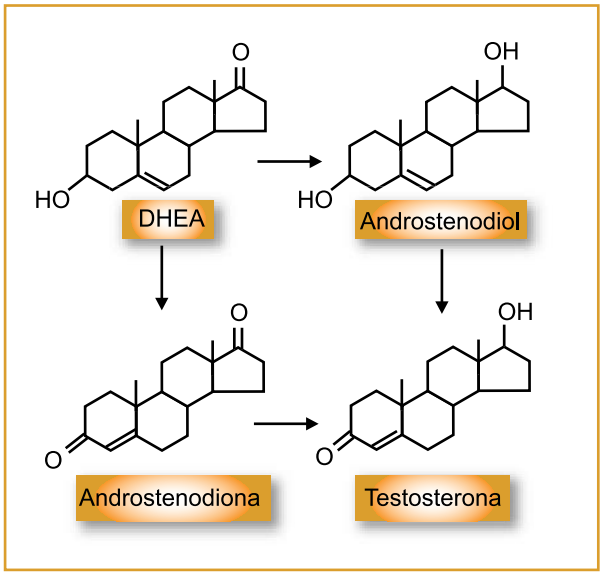


Figura 4. *Formación de andrógenos. DHEA: deshidroepiandrosterona.*

2.5.2. Síntesis de hormonas esteroideas en los testículos

El principal esteroide hormonal formado en los testículos es la testosterona, que se sintetiza a partir de la androstenodiona o de la DHEA en las células de Leydig **(Figura 4)**. Cierta cantidad de esta testosterona se transforma en estradiol en las células de Sertoli. Parece que esta última hormona favorece la espermatogénesis testicular.

En varios tejidos periféricos, especialmente en la próstata, genitales externos y muchas áreas de la piel, sobre todo en el cuero cabelludo, la testosterona se transforma en dihidrotestosterona (DHT) por la actividad de la enzima 5-α-reductasa **(Figura 5)**. La DHT es la forma activa en estos tejidos, ya que tiene una afinidad por el receptor correspondiente mucho mayor que la de la testosterona.

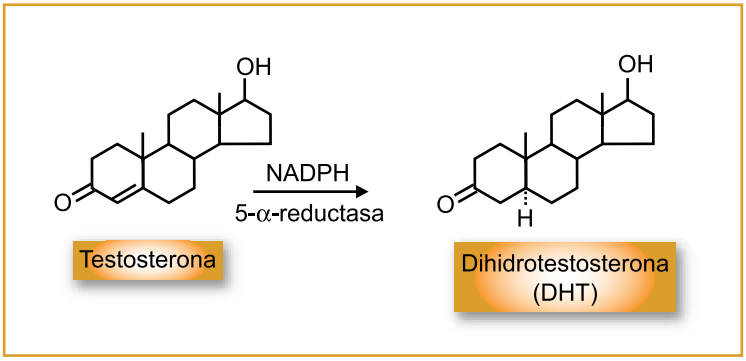


Figura 5. *Formación de dihidrotestosterona (DHT) a partir de testosterona.*

2.5.3. Síntesis de hormonas esteroideas en los ovarios

La principal hormona formada en los ovarios es el estradiol, que se sintetiza a partir de la androstenodiona o de la testosterona por la actividad de una enzima denominada aromatasa porque cataliza la transformación del anillo A de la molécula esteroide en un anillo aromático **(Figura 6)**. Esta enzima también se encuentra en muchos tejidos periféricos, sobre todo en el tejido adiposo, lo que permite la síntesis de estrógenos en estos tejidos a partir de los andrógenos de origen cortical. Ésta es la fuente de estrógenos tras la menopausia.

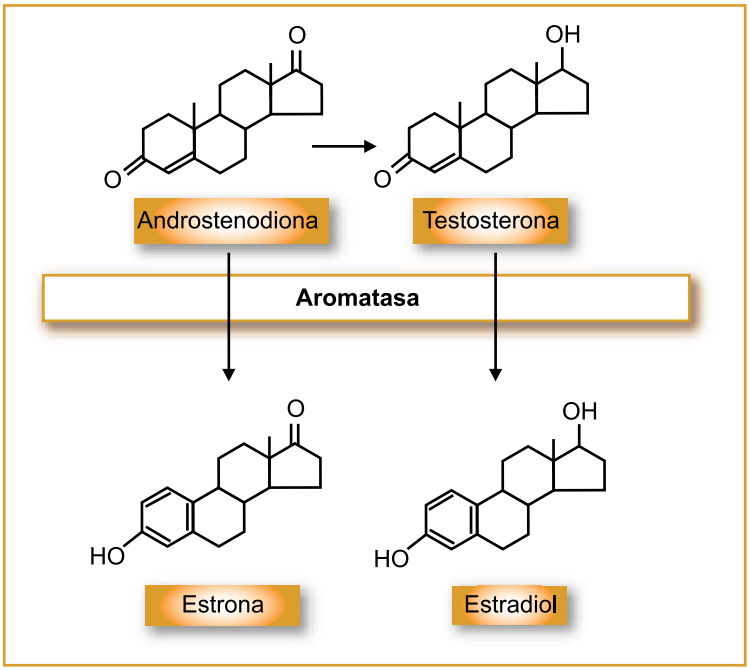


Figura 6. *Formación de estrógenos.*

2.5.4. Transporte, metabolismo y excreción de las hormonas esteroideas

Como se ha comentado anteriormente, las hormonas liposolubles necesitan proteínas de transporte para circular por la sangre. El cortisol es transportado mayoritariamente por una proteína específica llamada transcortina. Por el contrario, la aldosterona se une a las proteínas plasmáticas de manera inespecífica. La progesterona, la testosterona y el estradiol se unen a una proteína sanguínea específica, la globulina de unión a esteroides gonadales o GBG (***G****onadal steroid-****B****inding* ***G****lobulin*), pero pueden unirse también inespecíficamente a la albúmina plasmática.

El hígado es la sede principal del catabolismo de las hormonas esteroideas. Existen diversas vías metabólicas cuyo resultado final es la transformación en derivados más solubles que pueden ser finalmente conjugados con el ácido glucurónico para su excreción biliar o urinaria. El metabolismo hepático es especialmente importante para la progesterona, lo que dificulta su administración por vía oral.

Tanto el hígado como otros tejidos contienen una enzima denominada 11-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa, que transforma el cortisol en cortisona **(Figura 7)**. Este metabolito tiene una importante acción glucocorticoide pero es excretado por el hígado en su mayor parte, por lo que su concentración plasmática es baja. Sin embargo, se ha observado recientemente que esta enzima pue-

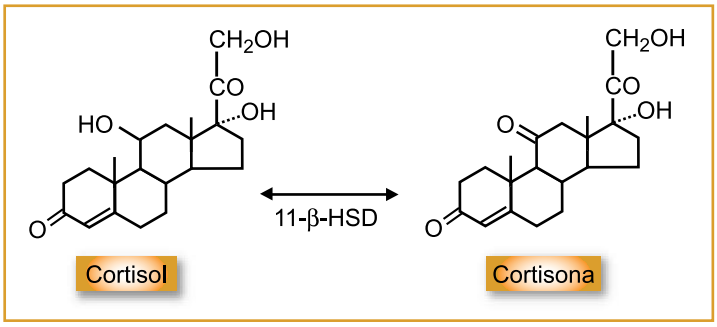


Figura 7. *Interconversión del cortisol y de la cortisona por la actividad de la 11-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (11-β-HSD).*

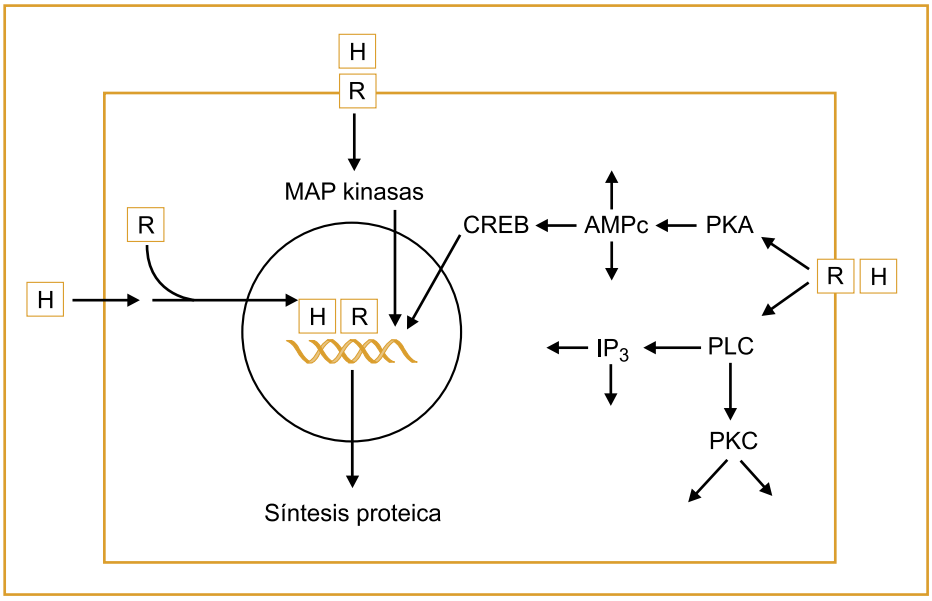


Figura 8. *Acciones genómicas y no genómicas de las hormonas esteroideas. CREB: proteína de unión al elemento de respuesta CAAT; H: hormona; IP_3: inositol trifosfato; MAP kinasas: kinasas activadas por mitógenos; PLC: fosfolipasa C; PKA: proteína kinasa A; PKC: proteína kinasa C; R: receptor.*

de catalizar también la conversión de cortisona en cortisol en determinados tejidos, como el tejido adiposo. El cortisol tiene un efecto estimulante sobre la diferenciación de los preadipocitos en adipocitos maduros, lo que se traduce en un aumento del tejido adiposo visceral, con las correspondientes repercusiones patológicas.

2.5.5. Acciones no genómicas de las hormonas esteroideas

Como se ha indicado en el apartado 2.4 y se detalla en el Capítulo 1.7, el mecanismo de acción de las hormonas esteroideas implica su unión a receptores que funcionan como factores de transcripción e influyen en la síntesis de proteínas específicas. Esto significa que la acción hormonal necesita un cierto tiempo (algunas horas) para realizarse. Sin embargo, existen en la actualidad muchos datos que indican efectos de estas hormonas que se detectan en tiempos mucho menores (en algunos casos, incluso del orden de segundos), lo que sólo puede explicarse por mecanismos no genómicos. Entre estos efectos puede destacarse la reacción acrosómica de los espermatozoides (progesterona), la vasodilatación a través de la producción de óxido nítrico (estrógenos), los cambios en el volumen celular de los leucocitos mononucleares (aldosterona) y la respuesta rápida al estrés (cortisol).

Es posible que algunas de estas acciones se lleven a cabo a través de la interacción de la hormona con su receptor "clásico" pero que dicho receptor, en esta ocasión, se encuentre situado en la membrana. Otra posibilidad es la interacción con receptores de membrana diferentes. La señalización intracelular parece ser muy diversa. Se han descrito fundamentalmente las vías del PI(3)K, de la óxido nítrico sintasa, PKC, CREB y MAP kinasas (*ver Capítulo 1.5*). En la **Figura 8** se esquematizan algunos de los posibles mecanismos involucrados en la respuesta no genómica.

2.5.6. Neuroesteroides

Existen datos suficientes en la actualidad para poder afirmar que algunas hormonas esteroideas pueden sintetizarse en el cerebro. Ello requiere la

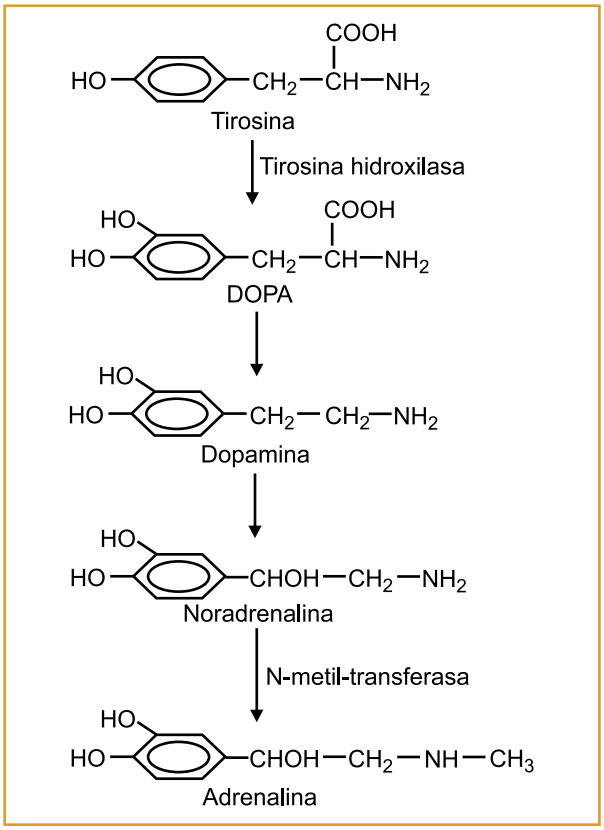


Figura 9. *Síntesis de catecolaminas.*

acción coordinada de los distintos tipos de células nerviosas en las diversas localizaciones cerebrales. Estos neuroesteroides actuarían preferentemente por mecanismos no genómicos. Se han descrito efectos sobre el desarrollo, neuroprotección, modificaciones del sueño, etc. Una de las hormonas más estudiadas en este campo es la DHEA. Como se ha considerado anteriormente, este compuesto se libera en gran cantidad desde la corteza suprarrenal a la sangre, por lo que puede llegar, así, al cerebro, pero también se ha demostrado su síntesis cerebral.

2.6. Catecolaminas y hormonas tiroideas

Estas hormonas proceden metabólicamente del aminoácido tirosina. Las catecolaminas (dopamina, noradrenalina y adrenalina) se sintetizan en las células cromafines de la médula suprarrenal, siendo la adrenalina la amina que se forma en mayor proporción. Por el contrario, la noradrenalina se forma mayoritariamente en otros órganos con inervación simpática. Las etapas metabólicas de la síntesis de catecolaminas están representadas en la **Figura 9**.

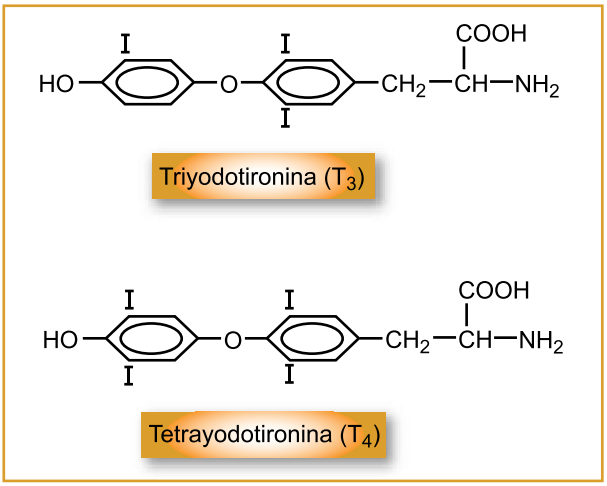


Figura 10. *Hormonas tiroideas.*

La primera reacción, catalizada por la tirosina hidroxilasa, es la etapa limitante y es activada por la estimulación simpática, a través de la formación de AMP cíclico. La síntesis final de adrenalina se produce por la acción de una enzima con actividad N-metil-transferasa, que es estimulada por el cortisol procedente de la corteza suprarrenal.

La síntesis de las hormonas tiroideas es mucho más compleja. Como se puede observar en la **Figura 10**, se trata de dos moléculas relativamente sencillas: triyodotironina (T_3) y tetrayodotironina (T_4). Sin embargo, su formación se realiza a partir de una proteína específica (tiroglobulina) que permite la incorporación del yodo a los anillos de tirosina. Posteriormente, la tiroglobulina yodada se almacena durante varias semanas en forma coloidal en los folículos tiroideos. La liberación de las hormonas tiroideas exige la reentrada de la tiroglobulina en las células tiroideas y la proteólisis de los enlaces peptídicos correspondientes. Todo ello se produce por la estimulación de la TSH.

2.7. Hormonas formadas a partir de precursores proteicos

Como se acaba de describir, las hormonas tiroideas se forman a partir de una proteína, la tiroglobulina, aunque estas hormonas son com-

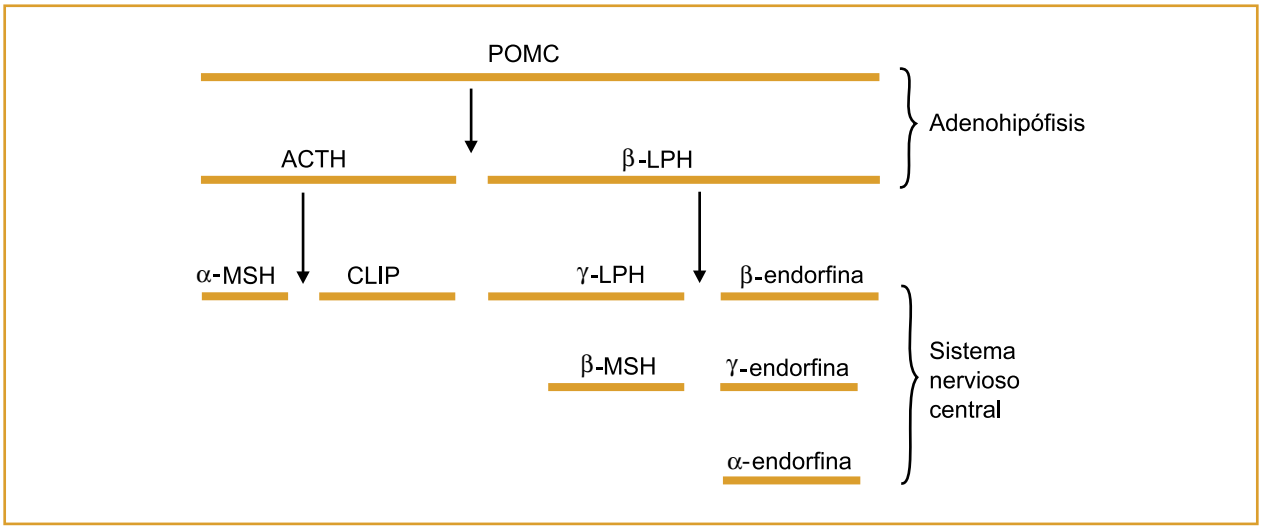


Figura 11. *Síntesis de lipotropinas (LPH), hormonas estimulantes de los melanocitos (MSH), hormona adrenocorticotropa (ACTH), péptido semejante a la corticotropina (CLIP) y endorfinas a partir de la pro-opio-melanocortina (POMC).*

puestos químicos de pequeño peso molecular derivados de aminoácidos. Otras hormonas, en este caso de naturaleza peptídica o proteica, derivan de proteínas de mayor tamaño molecular. En algunos casos, como en el de la insulina, la proteína precursora es necesaria para permitir la formación de los puentes disulfuro que caracterizan a la hormona en su estado final. En otros casos, como ocurre con la hormona paratiroidea (PTH) o la angiotensina II, no existen requerimientos estructurales sino que se trata de un mecanismo para controlar la formación de la hormona activa. Un caso particularmente interesante es el de las hormonas derivadas de la proopio-melanocortina (POMC). Esta proteína puede ser procesada de muy diversas formas que originan otros tantos péptidos hormonales de acuerdo con los tejidos implicados. Entre estos péptidos se encuentran la ACTH, la β-lipotropina, la hormona estimulante de melanocitos (MSH) y las endorfinas **(Figura 11)**.

3. Eicosanoides

Los eicosanoides son mediadores químicos con una gran actividad biológica derivados de ácidos de veinte átomos de carbono, fundamentalmente del ácido araquidónico. Entre ellos, destacan las prostaglandinas, las prostaciclinas, los tromboxanos y los leucotrienos. Intervienen en la regulación de numerosos procesos fisiológicos y están implicados, por tanto, en muchas alteraciones patológicas. Es destacable también su interés farmacológico, porque existen inhibidores de su síntesis con actividad terapéutica (especialmente, antiinflamatorios no esteroideos).

3.1. Biosíntesis

Los eicosanoides se forman a partir de tres ácidos grasos poliinsaturados de 20 átomos de carbono: eicosatrienoico o dihomo-γ-linolénico (20:3 n-6), eicosatetraenoico o araquidónico (20:4 n-6) y eicosapentaenoico (20:5 n-3). Los dos primeros derivan del ácido linoleico, mientras que el tercero deriva del ácido α-linolénico. Estos dos últimos son ácidos grasos esenciales de 18 átomos de carbono. La formación de los ácidos poliinsaturados de cadena larga a partir de los ácidos grasos esenciales se realiza por procesos enzimáticos de desaturación y alargamiento de cadena en el hígado (*ver Capítulo 1.13*). Posteriormente, estos ácidos se exportan desde el hígado al resto de los tejidos, incorporándose a los fosfolípidos de la membrana, preferentemente en la posición 2.

Existen una gran variedad de estímulos capaces de desencadenar la hidrólisis del enlace éster en dicha posición 2 de manera que se liberen los ácidos grasos correspondientes. A partir del ácido dihomo-γ-linolénico se originan entonces eicosanoides

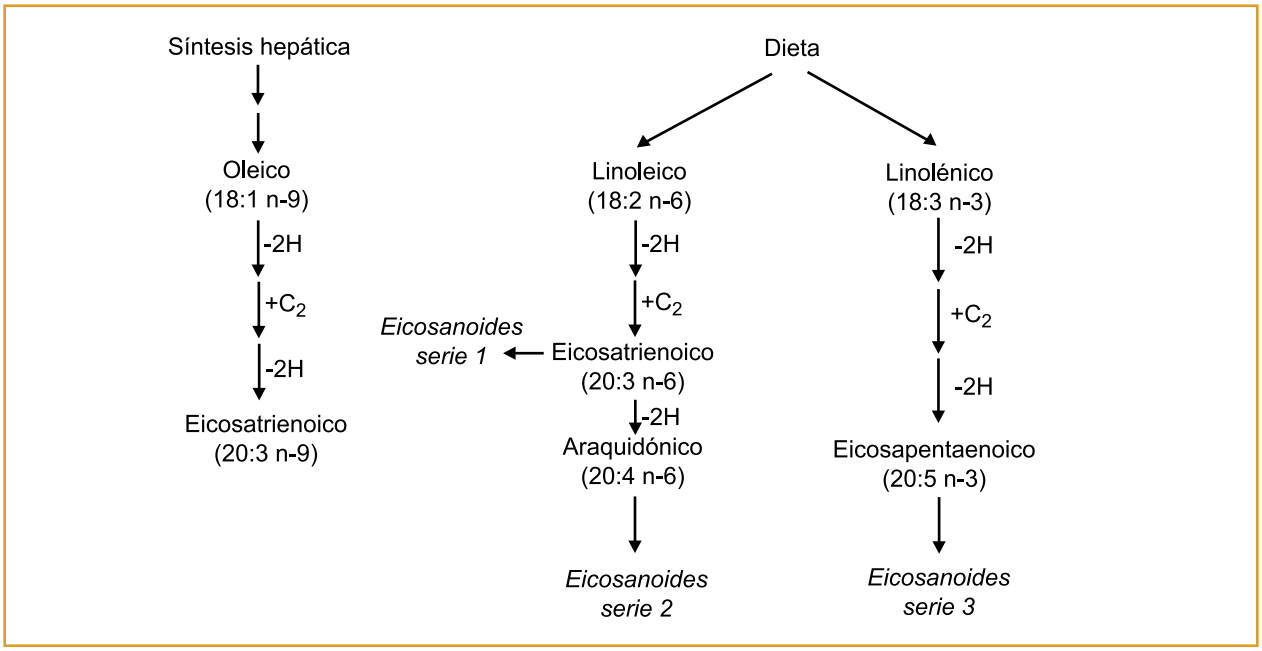


Figura 12. *Origen de las series 1, 2 y 3 de eicosanoides.*

de la serie 1; del ácido araquidónico derivan los eicosanoides de la serie 2 y del ácido eicosapentaenoico derivan los eicosanoides de la serie 3 **(Figura 12)**.

Los primeros eicosanoides investigados fueron los de naturaleza cíclica (prostanoides), formados por la actividad de la ciclooxigenasa: prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclinas. Posteriormente, se descubrieron otros derivados de naturaleza lineal originados por la acción de lipooxigenasas diversas, entre los que destacan los leucotrienos. En las **Figuras 13 y 14** se indican las vías de formación de los principales eicosanoides derivados del ácido araquidónico (serie 2), que son los más importantes en nuestras condiciones habituales de alimentación.

Además de estos compuestos, existen derivados con actividad biológica producidos por oxidación del ácido araquidónico a través del sistema del citocromo P-450, aunque está menos clara su importancia fisiológica. Por otra parte, existe la posibilidad de la transformación no enzimática del ácido araquidónico a compuestos semejantes a las prostaglandinas denominados isoprostanos. Estos eicosanoides presentan también actividad biológica y puede que les corresponda un cierto papel en la respuesta inflamatoria, dado que se forman por la acción de los radicales libres liberados en dicho proceso. Conviene destacar, por último, que el ácido araquidónico puede unirse en el cerebro a la etanolamina para formar la anandamina, compuesto capaz de unirse a receptores cannabinoides.

Los eicosanoides de las series 1 y 3 son análogos estructurales de los de la serie 2, derivada del araquidónico, con un enlace menos y un enlace adicional, respectivamente. En la **Figura 15** se indican las semejanzas estructurales entre tipos similares de prostaglandinas (PG) de cada serie.

Probablemente, el mecanismo principal de la regulación de la biosíntesis de los eicosanoides sea la disponibilidad del ácido araquidónico y de los otros precursores de las series 1 y 3, que es muy pequeña en condiciones habituales. Por tanto, resulta crítica la actuación de las enzimas que liberan estos ácidos de los fosfolípidos que los contienen. A su vez, estas enzimas están influenciadas por los sistemas de transducción de membrana en respuesta a una gran variedad de estímulos hormonales y de otros tipos.

La mayor parte de los receptores relacionados con la síntesis de eicosanoides operan en conexión con las proteínas G. Como resultado de la activación de este sistema se produce la activación de la fosfolipasa A_2 o de la fosfolipasa C (*ver Capítulo 1.5*).

La fosfolipasa A_2 es una enzima que actúa sobre fosfolípidos diversos entre los que destaca la fosfatidil-

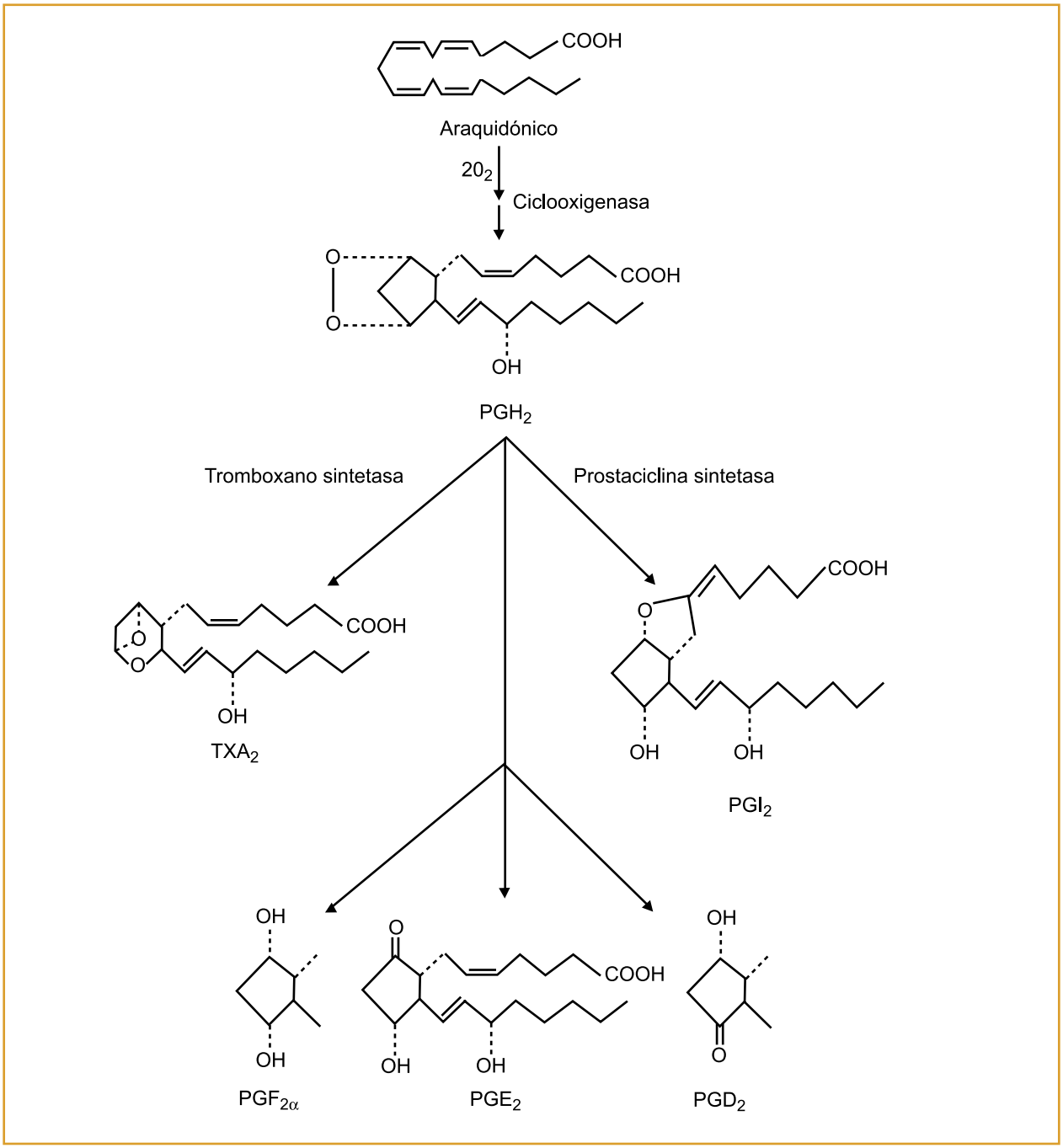


Figura 13. *Vía cíclica de formación de eicosanoides.*

colina, y necesita iones calcio para su actividad. Los iones calcio pueden provenir directamente del exterior celular (como ocurre en el caso de estímulos físicos sobre la membrana) o proceder del citosol una vez que se produce la activación de la fosfolipasa C (*ver más adelante*). La fosfolipasa A_2 libera directamente el ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana. Entre los efectores positivos de esta enzima, se pueden citar la adrenalina, la bradikinina, la trombina y la angiotensina II. En cambio, los corticoides naturales (y sus derivados farmacológicos) inhiben esta enzima a través

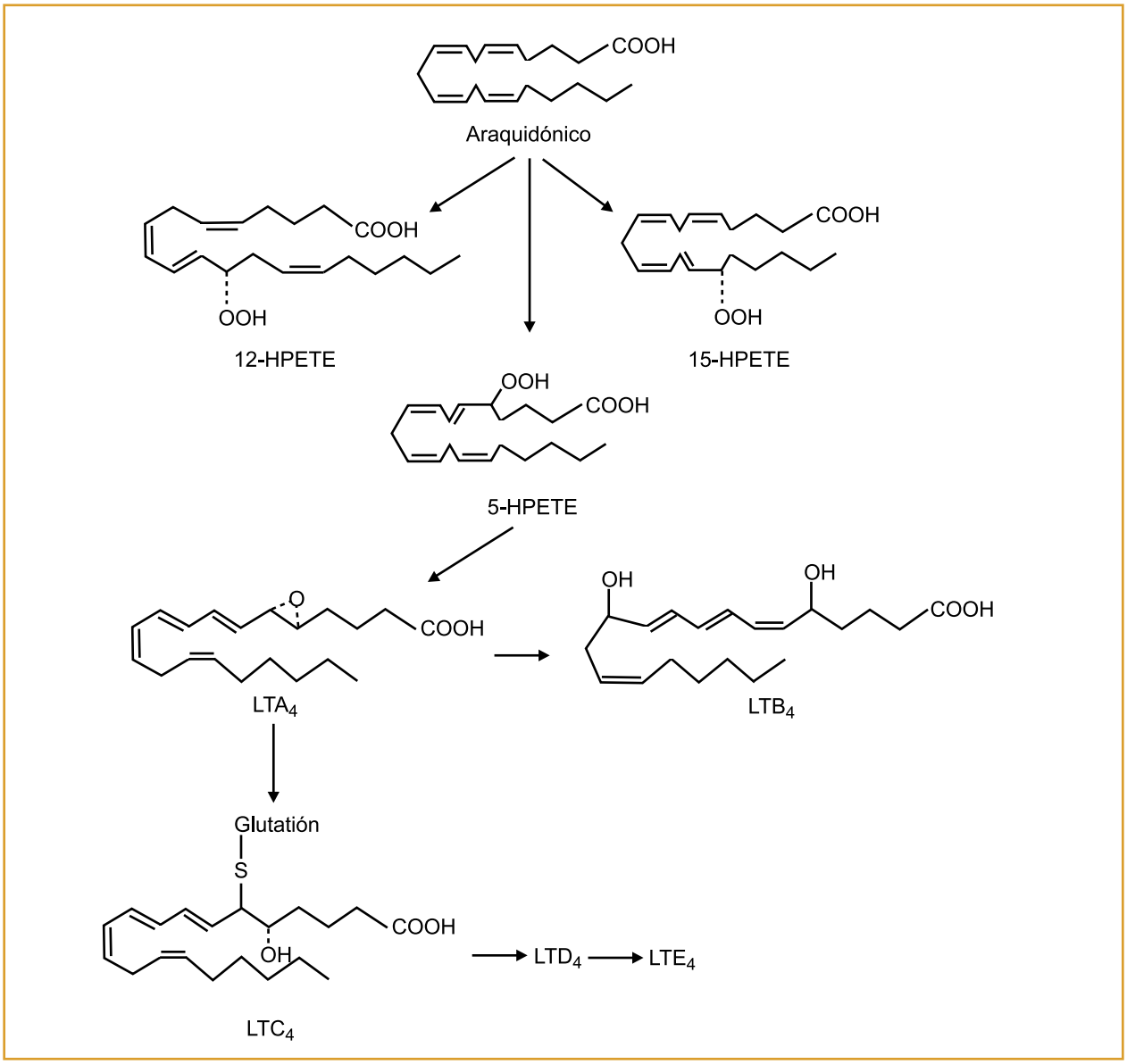


Figura 14. *Vía lineal de formación de eicosanoides.*

de la inducción de una proteína llamada lipocortina o lipomodulina.

La fosfolipasa C actúa sobre el fosfatidil-inositol-difosfato (PIP_2) liberando diacil-glicéridos y fosfoinositol-difosfato (IP_3). Este último libera iones calcio desde el retículo endoplásmico hacia el citosol, lo que se puede traducir en una activación ulterior de la fosfolipasa A_2. Por otra parte, existen lipasas que pueden actuar sobre los diglicéridos originando la liberación del ácido araquidónico de la posición 2. Un efector positivo bien establecido de la fosfolipasa C es la trombina **(Figura 16)**.

Las enzimas de la vía cíclica de formación de eicosanoides se encuentran en la fracción microsómica de numerosos tejidos. En casi todos ellos existe una prostaglandina sintetasa o ciclooxigenasa que se conoce con las siglas COX-1 y que es de naturaleza constitutiva, no inducible. Otra forma de ciclooxigenasa, la COX-2, no se encuentra habitualmente en cantidades importantes pero puede inducirse por algunos factores de crecimien-

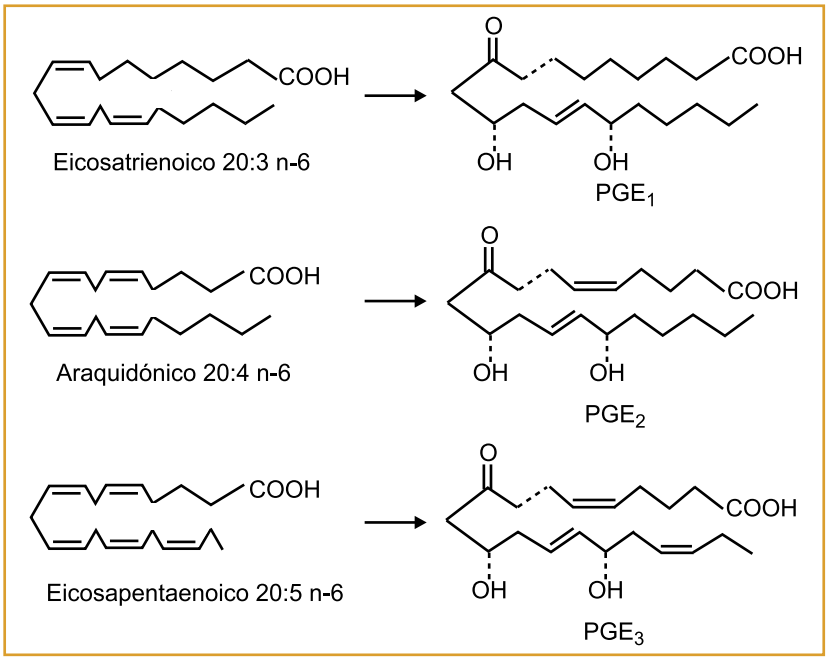


Figura 15. *Relaciones estructurales entre un mismo tipo de prostaglandina (PGE) de cada serie.*

to o citokinas. La ciclooxigenasa se inhibe por la aspirina y otros antiinflamatorios no esteroideos. La COX-2 parece también ser inhibible por corticoides.

El resto de las enzimas ya no son tan ubicuas. Algunos tejidos, como el pulmón, contienen todas ellas y pueden sintetizar toda la gama de prostanoides. Por el contrario, en las plaquetas sólo se pueden sintetizar prostaglandinas de la serie D y tromboxanos, mientras que el endotelio vascular sólo sintetiza prostaciclinas.

Las enzimas de la vía lineal se encuentran fundamentalmente en la fracción citosólica de neutrófilos (5-lipooxigenasa y 12-lipooxigenasa), eosinófilos (15-lipooxigenasa) y plaquetas (12-lipooxigenasa). La 5-lipooxigenasa es la enzima mejor conocida de este grupo. Para su activación se necesita el concurso de iones calcio intracelulares y de una proteína activadora que permite su unión a la membrana.

3.2. Mecanismo de acción

Existen receptores de membrana para cada tipo de eicosanoides, que han sido estudiados especialmente en plaquetas y músculo liso. Es destacable que pueden existir, sin embargo, varios tipos de receptores para un mismo eicosanoide, incluso en una misma membrana celular. En todos los casos, la transducción de las señales de membrana se lleva a cabo por medio de las proteínas G. En algunos casos se llega a la estimulación o a la inhibición de la adenilato ciclasa, aumentando o disminuyendo la producción de AMP cíclico. En otros casos, se produce la estimulación de la fosfolipasa C, con aumento subsiguiente de diglicéridos y fosfoinositol-difosfato. El tromboxano A_2 (TXA_2) y los leucotrienos parecen actuar a través de la estimulación de la fosfolipasa C, mientras que la PGI_2 activa la adenilato ciclasa. Por otra parte, la PGE_2 puede actuar a través de ambos sistemas. De una manera muy general, se puede decir que la estimulación del sistema del fosfoinositol-difosfato y la liberación subsiguiente de iones calcio se traduce en fenómenos de constricción, mientras que la producción de AMP cíclico supone relajación **(Figura 17)**.

Recientemente se ha puesto de manifiesto que algunos eicosanoides pueden actuar sobre receptores nucleares del tipo PPAR, modulando la expresión génica (*ver Capítulo 1.31*).

3.3. Catabolismo

Los eicosanoides tienen una vida media muy corta, degradándose de una manera muy rápida una vez sintetizados. En general, la inactivación transcurre en una primera fase por la acción de enzimas específicas, que actúan con gran rapidez sobre los diversos tipos de eicosanoides. En una segunda fase, más lenta, los metabolitos resultantes de la primera inactivación prosiguen su degradación catabólica por enzimas inespecíficas, algunas de las cuales son las mismas que actúan habitualmente en la degradación de los ácidos grasos (sistema de la β-oxidación). La sede principal del catabolismo de los eicosanoides es el pulmón.

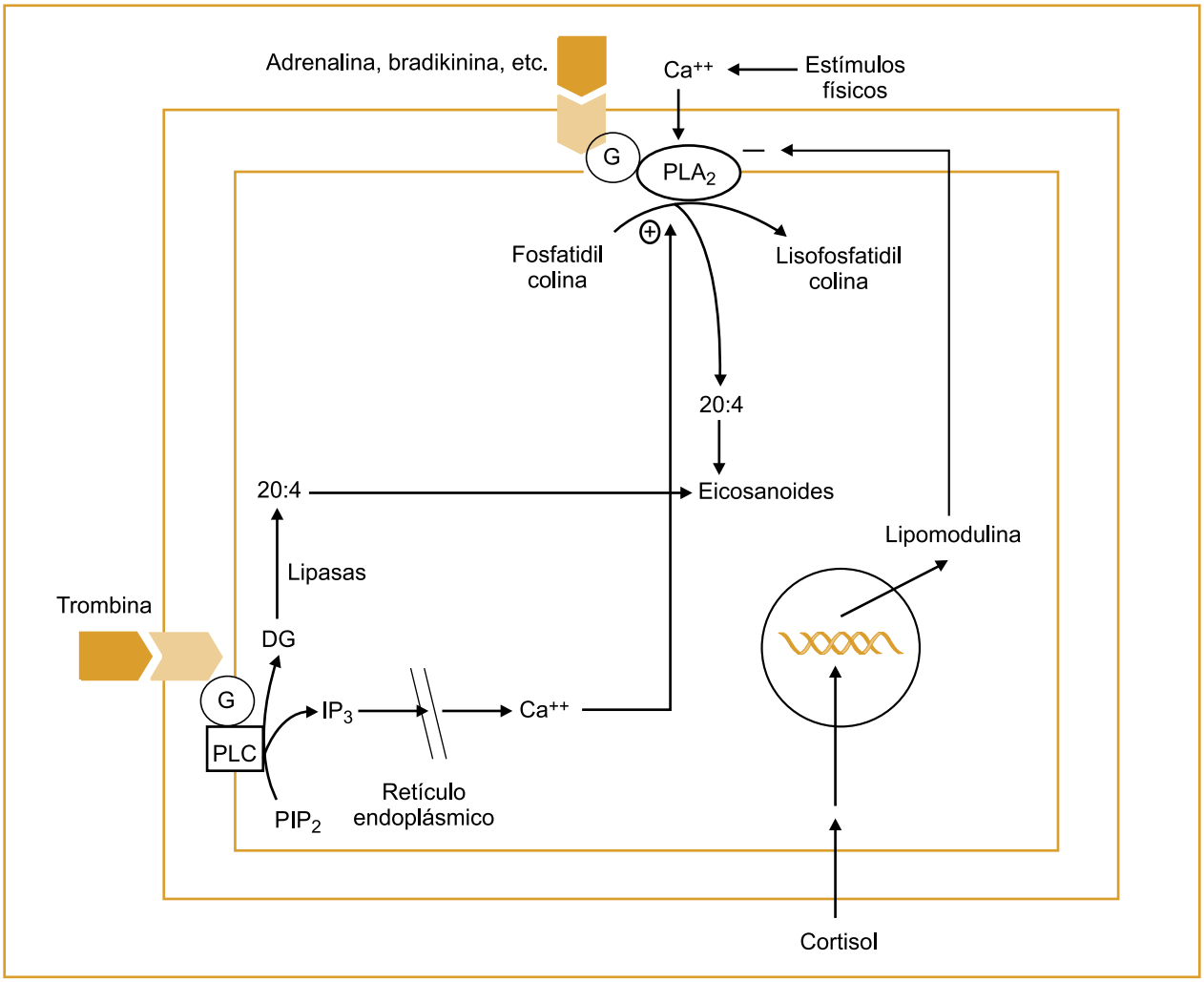


Figura 16. *Liberación de ácido araquidónico desde los fosfolípidos de la membrana.*

3.4. Efectos biológicos

Como los eicosanoides tienen una vida media muy corta, solo actúan en las células que los producen o en su entorno próximo. Sus efectos biológicos son en general amplios e intensos. Es importante resaltar, sin embargo, que estos efectos son muy variables. Existen diferencias según la especie o el tejido ensayados, así como entre los distintos tipos de eicosanoides. Pero pueden aparecer incluso efectos contrapuestos según las cantidades utilizadas de un determinado compuesto.

Se pueden destacar los efectos siguientes:

a) Sobre los elementos formes de la sangre. Como se considerará con más detalle en el apartado 3.7, la PGI_2 inhibe la agregación plaquetaria mientras que el TXA_2 la estimula. El leucotrieno B_4 (LTB_4) es un potente agente quimiotáctico sobre leucocitos polimorfonucleares, monocitos y eosinófilos, lo que contribuye de forma importante a la reacción inflamatoria. También estimula la adhesión de los neutrófilos al endotelio vascular y su migración transendotelial hacia el foco inflamatorio. La PGE_2, a concentraciones altas, inhibe la diferenciación de los linfocitos B y la proliferación de los linfocitos T, comportándose, por tanto, como inmunosupresora.

b) Sobre el sistema cardiovascular. Las prostaglandinas son en general vasodilatadoras, aunque se producen excepciones en determinados territorios vasculares. Generalmente, también disminuyen la presión arterial y aumentan

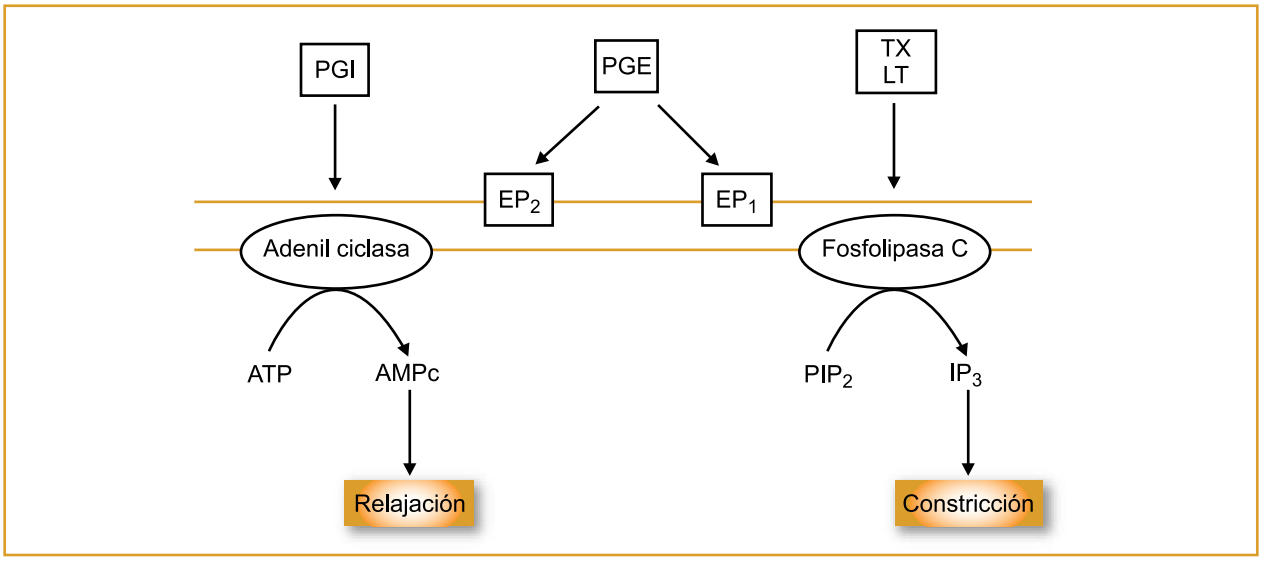


Figura 17. *Mecanismo de acción de los eicosanoides.*

el gasto cardiaco. El efecto hipotensor es muy marcado para la PGI_2. En cambio, la prostaglandina PGF_2, los leucotrienos LTC_4 y LTD_4, y el tromboxano TXA_2 son vasoconstrictores e hipertensores.

c) Sobre la musculatura uterina. Las prostaglandinas de las series E y F, así como el TXA_2, contraen la musculatura uterina. De hecho, las prostaglandinas E y F son inductoras del parto y pueden utilizarse en la inducción del aborto terapéutico.

d) Sobre el tracto gastrointestinal. La PGI_2 y la PGE_2 inhiben la secreción ácida en el estómago. Las prostaglandinas de la serie E aumentan, además, la secreción de moco en el estómago y en el intestino delgado y estimulan la motilidad intestinal.

e) Sobre el riñón. La PGE_2 y la PGI_2 disminuyen la resistencia vascular y aumentan el flujo sanguíneo cuando la perfusión renal está disminuida. Además, la PGE_2 inhibe la reabsorción de cloruro sódico en los túbulos colectores corticales, dificulta la acción de la hormona antidiurética y estimula la liberación de renina. En el riñón se produce también TXA_2, que es vasoconstrictor.

f) Sobre el árbol bronquial. Las prostaglandinas de la serie E relajan la musculatura de los bronquios y de la tráquea, mientras que las de la serie F producen broncoespasmo. La acción broncoconstrictora es especialmente importante en el caso de los leucotrienos LTC_4 y LTD_4.

g) Sobre el sistema nervioso central. La PGE_2, la PGI_2 y el LTB_4 actúan sobre las terminaciones nerviosas aferentes disminuyendo el umbral del dolor en los nociceptores. Estos compuestos pueden, por tanto, amplificar la sensación de dolor en los procesos inflamatorios.

h) Sobre el sistema endocrino. Las prostaglandinas de la serie E ejercen multitud de acciones sobre el sistema endocrino, pudiendo destacarse el estímulo sobre la producción de ACTH, hormona de crecimiento, gonadotropinas y prolactina, y la inhibición de la secreción de insulina. En cambio, el 12-HETE parece favorecer esta última secreción.

i) Sobre el metabolismo. Además de los efectos derivados de la acción de los eicosanoides sobre el sistema endocrino, es interesante señalar el efecto directo antilipolítico de las prostaglandinas de la serie E en el tejido adiposo.

3.5. Implicaciones fisiopatológicas

Dada la diversidad de las acciones biológicas de los eicosanoides y teniendo en cuenta el hecho de que la mayoría de las células del organismo son capaces de sintetizarlos, no es extraño que estos compuestos estén implicados en numerosos procesos patológicos. En la mayoría de los casos, las alteraciones funcionales parecen deberse a un exceso de producción, aunque también pueden existir problemas por carencia. En este caso, la causa

puede estar en una deficiencia de precursores, pero, muchas veces, estas carencias son el resultado de determinados tratamientos medicamentosos que impiden su síntesis tisular.

Se van a considerar los siguientes aspectos:

a) Eicosanoides, inflamación y antiinflamatorios. Algunos eicosanoides son mediadores bioquímicos importantes en la reacción inflamatoria. Como se ha señalado en el apartado anterior, el LTB_4 tiene una actividad quimiotáctica muy marcada sobre diversas células sanguíneas implicadas en este proceso, especialmente leucocitos polimorfonucleares y monocitos. Una vez atravesado el endotelio, estas células llegan al foco inflamatorio y pueden realizar sus funciones fagocíticas características. Por otra parte, las prostaglandinas PGE_2 y PGI_2 son responsables de la hiperemia típica de la lesión inflamatoria, por su carácter vasodilatador, y contribuyen al dolor y a la fiebre amplificando la acción de otros mediadores como la bradikinina.

Hay una gran cantidad de fármacos antiinflamatorios, la mayoría de los cuales inhiben la síntesis de eicosanoides. Algunos, como la aspirina y los demás antiinflamatorios no esteroideos, ejercen su mecanismo de acción a través de la inhibición de la ciclooxigenasa, lo que impide la formación de prostaglandinas, prostaciclinas y tromboxanos. Otros, como los derivados del cortisol, suprimen también la formación de los eicosanoides de la serie lineal porque actúan inhibiendo la COX-2 y la fosfolipasa A_2 (antiinflamatorios esteroideos). Todos estos fármacos se utilizan ampliamente en el tratamiento sintomático de la inflamación, muchas veces de manera crónica. Lógicamente, la supresión de la biosíntesis de eicosanoides no afecta exclusivamente a las regiones inflamadas, sino que produce una disminución de dicha biosíntesis en otros órganos y tejidos, originando las alteraciones funcionales y patológicas correspondientes. Los efectos secundarios de la utilización continuada o en dosis altas de los antiinflamatorios se ponen de manifiesto sobre todo en el estómago y en el riñón, donde las prostaglandinas tienen carácter protector.

b) Eicosanoides y asma bronquial. Aunque los distintos tipos de prostaglandinas tienen efectos contrapuestos sobre el árbol bronquial (apartado anterior), predomina fuertemente la acción de los peptidil-leucotrienos, LTC_4 y LTD_4, que son broncoconstrictores potentísimos. Su liberación por las células sensibilizadas durante el proceso anafiláctico contribuye fuertemente al cuadro clínico, especialmente durante los periodos intercríticos. Precisamente, antes de su aislamiento, los peptidil-leucotrienos se conocían en conjunto por el nombre de "sustancia de reacción lenta de la anafilaxia (SRSA)".

c) Eicosanoides y respuesta inmunitaria. Los eicosanoides parecen estar implicados en la regulación de la respuesta inmune, aunque se desconocen todavía muchos aspectos de esta regulación. En cualquier caso, está bien establecido que la PGE_2 es necesaria para la proliferación linfocitaria, pero se comporta como inmunosupresora cuando se encuentra en concentraciones elevadas, por ejemplo cuando se utilizan ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 en nutrición parenteral. En estas condiciones, esta prostaglandina inhibe especialmente la síntesis de la interleukina IL-1, disminuyendo, por tanto, la actividad de los linfocitos T cooperadores (*ver apartado 4.6.1 de este mismo Capítulo*). El efecto inmunosupresor resulta contraproducente en los pacientes sometidos a nutrición parenteral, porque favorece las infecciones postoperatorias e intercurrentes. Sin embargo, puede ser aprovechable cuando se trata de frenar el rechazo de un trasplante (*ver Capítulos 1.35 y 4.41*).

d) Eicosanoides y resorción ósea. Algunos tumores que no afectan a las glándulas paratiroideas, como el carcinoma medular de tiroides o el carcinoma de la glándula mamaria, originan hipercalcemia por resorción ósea. Parece probable que el mediador para este efecto sea la PGE_2, que el tumor libera en grandes cantidades. Esta prostaglandina puede ser también la causante de la hipotensión y de otros efectos sistémicos que se producen en estas condiciones. Otras fuentes de PGE_2 que originan también resorción ósea son el líquido sinovial en la artritis reumatoide y determinados quistes dentales.

e) Eicosanoides y reproducción. Las prostaglandinas de la serie F contraen fuertemente la musculatura uterina y sensibilizan las vías aferentes para el dolor. Por ello, se utilizan los inhibidores de la síntesis de prostaglandinas para aliviar los síntomas en la dismenorrea. Por el contrario, utilizando el mismo efecto sobre el útero, se han ensayado análogos estructurales de estas prostaglandinas para inducir el aborto terapéutico.

Parece existir una relación entre la concentración de prostaglandinas en el líquido seminal y la fertilidad masculina, aunque los datos no son todavía incontestables. Por otra parte, se ha utilizado el efecto vasodilatador de la PGE_1 para lograr la erección del pene por inyección intracavernosa en el tratamiento de la disfunción eréctil.

f) Eicosanoides y persistencia del conducto arterioso en neonatos. La PGI_2 es capaz de dilatar este conducto en los recién nacidos. Por ello, se utiliza de manera paliativa durante la espera de la intervención quirúrgica en los casos en que se afecta la circulación pulmonar por la existencia de una cardiopatía, mejorando de esta forma la oxigenación tisular. Por el contrario, los inhibidores de la síntesis de prostaglandinas estarían indicados cuando existe persistencia patológica del conducto arterioso.

3.6. Eicosanoides y dieta

Es importante señalar que las proporciones relativas de las diferentes series de eicosanoides en el organismo dependen del tipo de alimentación. La alimentación habitual en el mundo occidental, a base de vegetales y animales terrestres, tiene como consecuencia la preponderancia de la serie 2, derivada del araquidónico. Es necesario recordar que, a su vez, este compuesto deriva del linoleico, que abunda en el mundo vegetal. En cambio, como el α-linolénico es muy abundante en las algas, los animales acuáticos tienen una gran riqueza en este ácido y sus derivados de cadena larga, entre ellos el eicosapentaenoico. Por tanto, la ingesta de grandes cantidades de pescado origina un importante aumento de los eicosanoides de la serie 3 en el organismo. Por lo que se refiere a los eicosanoides de la serie 1, derivados del ácido eicosatrienoico (20:3 n-6), son poco abundantes, a no ser que se ingieran grandes cantidades de ácido γ-linolénico. Este compuesto, que se encuentra sólo en algunas especies vegetales terrestres, como la onagra o la borraja, se convierte fácilmente en ácido eicosatrienoico y se favorece mucho la formación de eicosanoides de la serie 1.

De una manera general, se puede decir que los eicosanoides de la serie 2, los más abundantes en nuestro organismo dadas las características de nuestra alimentación, son muy activos. Por el contrario, los eicosanoides de la serie 3 suelen tener menos actividad biológica. Concretamente, el tromboxano TXA_3 es muy poco proagregante plaquetario, y el leucotrieno LTB_5 es muy poco quimiotáctico sobre los leucocitos. Como se acaba de señalar, estos compuestos se originan en cierta cantidad cuando la ingesta es muy rica en ácidos poliinsaturados de la serie n-3, derivados de peces y otros animales acuáticos. En estas condiciones, pueden alterarse determinados procesos fisiopatológicos, tal como se va a describir a continuación, al estudiar la regulación de la agregación plaquetaria.

3.7. Regulación de la agregación plaquetaria

Las plaquetas son corpúsculos sin núcleo, procedentes de la fragmentacion de los megacariocitos, que desarrollan un papel fundamental en la hemostasia. La actividad plaquetaria se desencadena por estímulos primarios (colágeno, trombina, adrenalina) y por sustancias que pueden ser liberadas por las propias plaquetas activadas [serotonina, ADP, iones calcio, factor activador de las plaquetas (PAF) y tromboxano (TXA_2)]. También existen factores inhibidores, como la prostaciclina (PGI_2) y el óxido nítrico (NO). Todas estas sustancias parecen tener receptores específicos en la membrana plaquetaria. En la **Figura 18** se resumen los mecanismos de la respuesta plaquetaria tras la estimulación de algunos de estos receptores.

La interacción entre los estímulos primarios y las sustancias plaquetarias y los receptores produce la liberación de iones calcio procedentes del sistema tubular denso al espacio citoplasmático. En este compartimiento celular, los iones calcio estimulan la calmodulina, produciéndose la fosforilación de las cadenas ligeras de la miosina, lo que origina finalmente la contracción actomiosínica responsable de los cambios de forma y de los movimientos plaquetarios.

La liberación de iones calcio al citosol puede considerarse el mecanismo fundamental para el desencadenamiento de la actividad plaquetaria. El principal estímulo para esta liberación parece ser el inositol-trifosfato (IP_3), que se produce cuando se activa la fosfolipasa C por la trombina, el ADP, los propios iones calcio o el TXA_2. Este último compuesto puede considerarse como el regulador

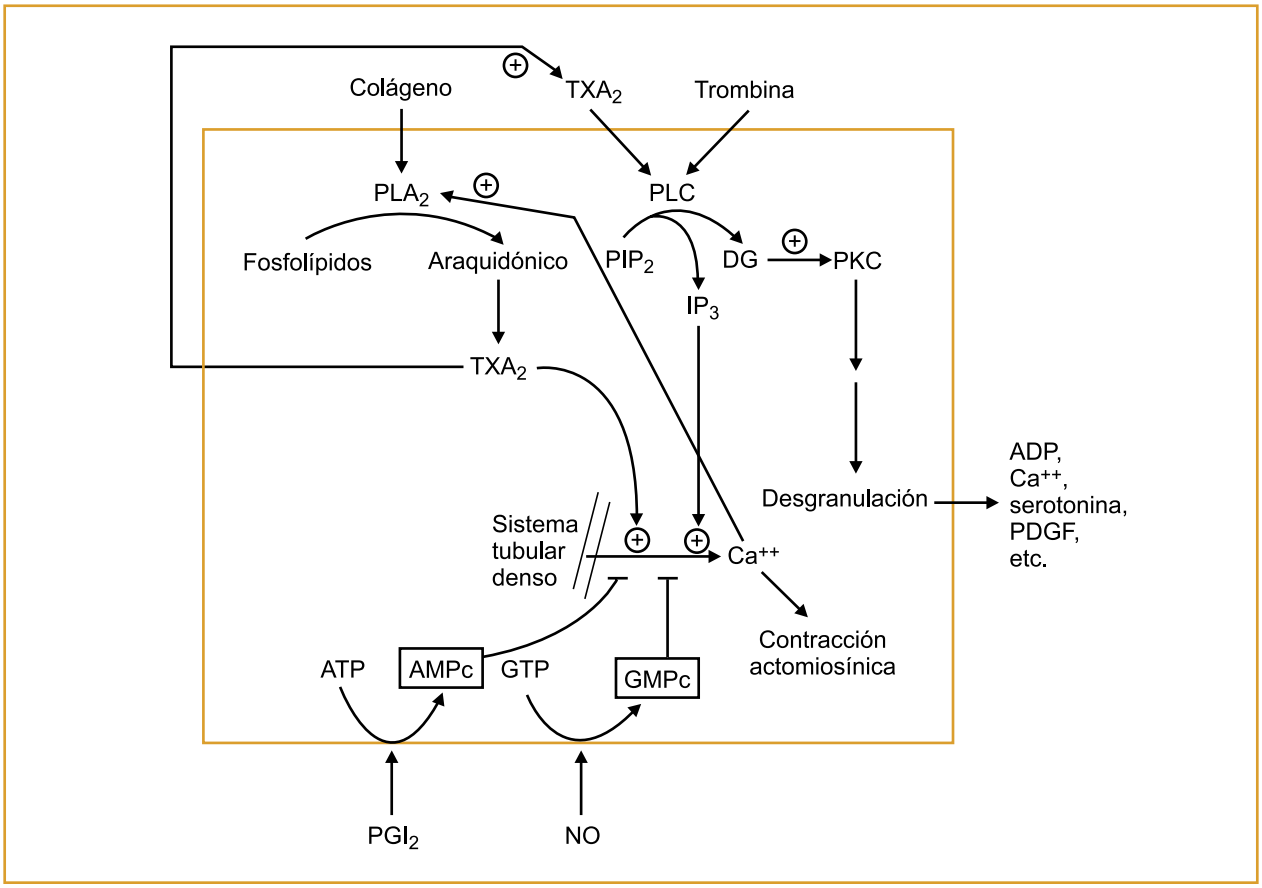


Figura 18. *Regulación de la agregación plaquetaria. DG: diacilglicerol; IP_3: inositol trifosfato; PIP_2: fosfatidil inositol bisfosfato; PLA_2: fosfolipasa A_2; PLC: fosfolipasa C; PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas; PKC: proteína kinasa C.*

principal positivo de la actividad plaquetaria, puesto que es capaz a su vez de intervenir directamente en la liberación de iones calcio desde el sistema tubular denso al espacio citosólico y, además, una vez que se sintetiza en el interior de la plaqueta, puede salir al plasma y estimular otras plaquetas. Los compuestos que originan la formación de tromboxano son el colágeno, el PAF y, probablemente, los iones calcio y el ADP. Todos estos efectores activan la fosfolipasa A_2, se libera ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana y se produce tromboxano como producto principal, gracias a la actividad intensa de la tromboxano sintetasa en la plaqueta.

La activación de la fosfolipasa C por la trombina y demás efectores ya citados produce dos segundos mensajeros: inositol trifosfato (IP_3) y diacilglicerol. Este último activa la proteína kinasa C, lo que causa la fosforilación de una proteína plaquetaria, la plekstrina, que actúa sobre los gránulos α y los gránulos densos, produciendo la liberación de su contenido. Los gránulos densos contienen, entre otras sustancias, ADP, iones calcio y serotonina, todas ellas factores estimulantes de la actividad plaquetaria. El contenido de los gránulos α está más relacionado con el fenómeno de la coagulación [factor plaquetario 4 (PF4), β-tromboglobulina, factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), fibrinógeno, etc.]. Vale la pena resaltar que la liberación de PDGF desempeña un papel clave en el crecimiento del ateroma cuando las plaquetas se adhieren al mismo a consecuencia de su ruptura, ya que este factor de crecimiento actúa estimulando fuertemente la proliferación de las células musculares lisas (leiomiocitos) (*ver apartado 4.2 de este mismo Capítulo*).

En la plaqueta existe también un sistema de recaptación de iones calcio al sistema tubular, proceso que es estimulado por AMP cíclico. La síntesis de este nucleótido aumenta al activarse la adenila-

to ciclasa de la membrana plaquetaria por acción de la prostaciclina (PGI_2). Este eicosanoide es el principal producto del ácido araquidónico en las células endoteliales tras la activación de la fosfolipasa A_2. Por tanto, la liberación de prostaciclina por el endotelio constituye un sistema regulador negativo de la agregación.

El papel de las células endoteliales en el control de la actividad plaquetaria no se limita a la liberación de prostaciclina. Estas células pueden generar también óxido nítrico, que es capaz de interaccionar con las plaquetas y estimular la recaptación de los iones calcio, en este caso a través del GMP cíclico.

Aunque los mecanismos son más complicados, se puede concluir que la agregación plaquetaria está regulada en gran parte por la relación entre las concentraciones de dos eicosanoides: tromboxano y prostaciclina. Es interesante recordar que el tromboxano TXA_2 es, además, vasoconstrictor, mientras que la prostaciciclina PGI_2 es vasodilatadora. Por tanto, cualquier factor que altere el delicado equilibrio entre la producción plaquetaria de TXA_2 y la liberación endotelial de PGI_2 puede incidir en el proceso de agregación, así como en el estado de constricción o dilatación de la arteria correspondiente. Así, cuando el endotelio es objeto de una agresión, disminuye la producción de prostaciclina y el equilibrio se desplaza hacia la agregación. Esto es lo que ocurre tanto en el desarrollo del proceso aterogénico como en los fenómenos trombóticos que desencadenan los problemas clínicos.

Como se ha descrito en el apartado anterior, el tipo de alimentación puede condicionar la proporción de las diferentes series de eicosanoides en el organismo. Así, el consumo intenso de grasas de origen marino y, por consiguiente, el aumento de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3, originará cantidades importantes de eicosanoides de la serie 3. En estas condiciones, las plaquetas forman TXA_3 mientras que las células endoteliales generan PGI_3. Esta última conserva una actividad antiagregante muy similar a la de la PGI_2. Por el contrario, el TXA_3 es muy poco agregante. El resultado es que disminuye la actividad plaquetaria, como se pone de manifiesto incluso con la aparición de hemorragias nasales espontáneas. De hecho, las poblaciones que consumen muchos animales marinos (como los esquimales o los habitantes de determinadas islas japonesas) tienen una incidencia muy baja de problemas trombóticos.

Es interesante destacar también que la actividad plaquetaria puede disminuirse mediante la administración de dosis muy bajas de ácido acetil-salicílico. Este fármaco se une de forma covalente irreversible a la ciclooxigenasa plaquetaria inhibiendo por completo su actividad. Esta inhibición impide la producción de tromboxano durante toda la vida plaquetaria porque, al carecer de núcleo, la enzima inutilizada no puede ser sustituida. En cambio, la inhibición de la ciclooxigenasa endotelial no es permanente, al tratarse de células con capacidad de sintetizar nuevas proteínas enzimáticas. La utilización de dosis muy bajas del fármaco permite la inhibición de la síntesis plaquetaria de tromboxano y afecta muy poco a la síntesis endotelial de prostaciclina, consiguiéndose un buen efecto antiagregante.

4. Factores de crecimiento y citokinas

El desarrollo puede ser definido como el conjunto de etapas que conducen al organismo desde el estadio de huevo fecundado hasta el de adulto definitivo. En el ser humano, esta evolución necesita numerosas divisiones, ya que el número de células totales es del orden de 10^{18}. Asimismo, el desarrollo de sistemas, órganos y tejidos implica que durante las etapas de división algunas células se diferencien llevando a cabo funciones específicas.

Las divisiones celulares son estimuladas por moléculas circulantes en el medio extracelular, denominadas **factores de crecimiento**, o más apropiadamente **citokinas**, aunque este nombre se reserva en muchas ocasiones para denominar a los factores de crecimiento relacionados con las células sanguíneas, y especialmente con las del sistema inmunitario. Además, la aparición de caracteres fenotípicos nuevos en las células, debida a la expresión de nuevos genes, se debe a la acción de otros factores también presentes en el medio extracelular llamados **factores de diferenciación**. A menudo, un mismo factor exhibe ambas propiedades, de manera que la distinción entre factores que actúan sobre la proliferación o factores que actúan sobre la diferenciación celular es difícil. Asimismo, con frecuencia no sólo actúa un único factor sino varios al mismo tiempo, obteniéndose efectos sinérgicos sobre el crecimiento.

Tabla 1. NOMENCLATURA Y ABREVIATURAS DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO Y CITOKINAS MÁS FRECUENTES

Nombre	Abreviatura	Ejemplos
Citokinas hematopoyéticas	Diversas	EPO, PTO, G-SCF, M-SCF
Efrinas	Eph	EphA1, EphB1
Factores de crecimiento epidérmico	EGF	EGF, HB-EGF, AR, BTC
Factores de crecimiento derivados de las plaquetas	PDGF	PDGF-A, PDGF-B
Factores de crecimiento de los fibroblastos	FGF	FGF-1, FGF-2, etc.
Factores de crecimiento transformante	TGF	TGF-β, BMP, GDF
Factores de crecimiento análogos a la insulina	IGF	IGF-I, IGF-II
Factores de necrosis tumoral	TNF	TNF-α, LT, Fas-L
Interleukinas	IL	IL-1, IL-2, etc.
Interferones	IFN	IFN-α, IFN-β, IFN-γ, etc.
Neorregulinas	GGF	GGF-2
Neuropoyetinas	Diversas	CNTF, LIF
Neurotrofinas	Diversas	NGF, BDNF, NT-3
Quimiokinas	Diversas	MCP-1, MIP-1, GRO-α
Semaforinas	Sema	CD100/sema 4D

Es habitual que un único factor de crecimiento no baste para provocar la división celular. Un primer factor puede desencadenar la síntesis de un segundo factor o de un receptor de membrana susceptible de unirse a un nuevo factor de crecimiento. Estos cambios se producen porque el primer factor desencadena una serie de reacciones intracelulares que conducen a la modulación de la expresión de nuevos genes. Asimismo, la unión de un primer factor puede desencadenar una serie de cambios metabólicos que posibilitan la aparición en superficie de nuevos receptores que, uniéndose a nuevos factores, determinan la división celular. Así, los factores de crecimiento se pueden dividir en dos grandes grupos: factores de competencia, que preparan a las células para la división celular y factores de progresión que las hacen avanzar en su ciclo.

Hasta la fecha se han identificado más de 100 factores de crecimiento o citokinas estructuralmente distintas y sin relación genética. En su mayor parte son péptidos o glicoproteínas con pesos moleculares que van desde 6 a 60 kDa y que actúan a concentraciones de 10^{-9} a 10^{-15} M. A diferencia de las hormonas, no se producen por glándulas especializadas, sino más bien por diversos tejidos y por células individuales. Unas citokinas reciben nombres que hacen referencia a su papel como factores de crecimiento, por ejemplo, el factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, el factor de crecimiento de los fibroblastos, etc.; otras reciben nombres genéricos que derivan de las células específicas que las producen; así, las interleukinas son producidas por los leucocitos, las linfokinas por los linfocitos y las monokinas por los monocitos. La nomenclatura de las citokinas tiene muy poco que ver con sus características estructurales, por lo que en numerosas ocasiones se les ha asignado un número consecutivo en función del orden de descubrimiento, o conservan nombres descriptivos históricos que con frecuencia son motivo de confusión. Sólo unas pocas están presentes en la sangre en concentraciones detectables y tienen la propiedad de influir en células diana distantes, por ejemplo, el factor β transformador del crecimiento (TGF-β), el factor de células madre (SCF), la eritropoyetina (EPO) y el factor estimulante de colonias de los monocitos (M-SCF). La mayor parte de las restantes citokinas actúan localmente a distancias muy cortas, de manera **paracrina**, es decir, sobre células adyacentes, o **autocrina**, o sea, sobre la propia célula que las produce. La **Tabla 1** muestra los principales

factores de crecimiento y citokinas conocidas y sus siglas internacionales.

Como se ha comentado anteriormente, los factores de crecimiento y las citokinas son, en su gran mayoría, de naturaleza peptídica. No obstante, existen otras biomoléculas, como los nucleótidos libres o las poliaminas, que pueden desempeñar funciones como factores de crecimiento y diferenciación celular (*ver Capítulos 1.15 y 1.16*). Las citokinas de naturaleza proteica pueden sintetizarse como tales o en forma de precursores que posteriormente son hidrolizados por proteasas hasta dar lugar a los polipéptidos definitivos. La unión a un receptor específico provoca una cascada de señales dentro de la célula, a través de la liberación de segundos mensajeros, con activación o inhibición de canales de transporte iónico o de otras biomoléculas, así como de enzimas reguladoras de vías metabólicas y de factores de transcripción que modulan la expresión génica (*ver Capítulo 1.5*).

Cada factor de crecimiento o citokina se segrega por uno o varios tipos particulares de células como respuesta a una variedad de estímulos, y origina un conjunto característico de efectos sobre el crecimiento, la movilidad, la diferenciación o la función de sus células diana. Un factor de crecimiento o citokina determinada puede segregarse individualmente o como parte de una respuesta coordinada junto con otros factores de crecimiento y citokinas no relacionados. Muchas son funcionalmente redundantes, lo cual significa que sus actividades se superponen en mayor o menor grado. Una citokina puede inducir la secreción de otras citokinas o mediadores químicos de un proceso, lo que desencadena una serie de efectos biológicos.

En el presente Capítulo se estudian las características estructurales y propiedades de los factores de crecimiento y de las citokinas más conocidos. En el Capítulo 1.5 se detallan los acontecimientos intracelulares que ocurren en repuesta a la unión de dichas moléculas con sus receptores específicos.

4.1. Familia del factor de crecimiento epidérmico (EGF: *Epidermal Growth Factor*)

La familia del factor de crecimiento epidérmico está formada por el propio EGF, el factor de crecimiento transformante α (TGF-α: ***T****ransforming* ***G****rowth* ***F****actor*-α), el factor de crecimiento análogo al EGF de unión a la heparina (HB-EGF: ***H****e-parin* ***B****inding-EGF*), la anfirregulina (AR), la β-celulina (BTC), la epirregulina (EPR) y el epigén. Los EGF tienen varios dominios, uno extracelular, otro transmembrana y otro citoplasmático, son liberados por varios tipos celulares mediante hidrólisis y actúan de forma autocrina o paracrina estimulando en las células su propio crecimiento.

Los EGF interaccionan con un receptor denominado EGFR, HER1 o Erb-B1 para llevar a cabo sus funciones biológicas. El EGFR también interacciona con otros tres receptores homólogos denominados ErbB2, ErbB3 y ErbB4, en una forma que depende del tipo de ligando, para originar heterodímeros. Las diferencias en los dominios intracelulares C-terminales de estos receptores determinan el repertorio de moléculas de señalización intracelular con las que interaccionan y, por tanto, los efectos biológicos. Los EGFR tienen actividad tirosina kinasa y la unión del ligando al receptor aumenta su actividad, lo que hace que se fosforilen otros sustratos exógenos iniciándose una cascada de señales intracelulares. La **Figura 19** muestra la familia de los EGF y de sus ligandos.

La fuerza y la duración de la unión del ligando al receptor están controladas por el proceso de internalización y reciclado de este último, el cual puede ser modulado por heterodimerización en la superficie celular y, por asociación, con moléculas de señalización intracelular.

4.1.1. Estructura

Los EGF se caracterizan por la existencia de una secuencia de consenso constituida por seis restos de cisteína conservados espacialmente que forman tres enlaces disulfuro intramoleculares con las siguientes interacciones: 1-3, 2-4 y 5-6. Esta secuencia se conoce como "motivo EGF" y es crucial para la unión al receptor.

El EGF es un polipéptido de 53 aminoácidos que deriva del procesamiento proteolítico de un precursor transmembrana denominado pre-pro-EGF, de 1.207 aminoácidos en la especie humana. Asimismo, la AR es un péptido de 78 a 84 aminoácidos que procede de un precursor integrado en la membrana de 252 aminoácidos. La BTC es también proce-

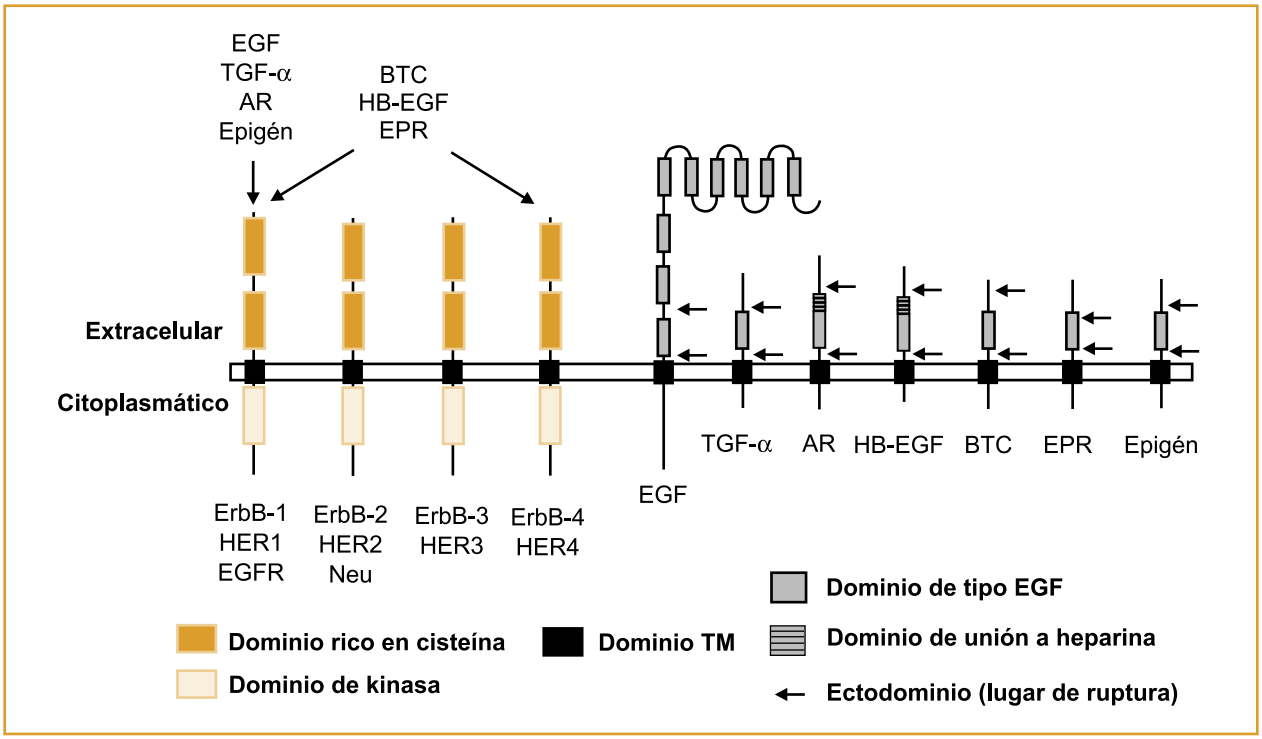


Figura 19. *Estructura de la familia de factores de crecimiento epidérmico (EGF) y de sus receptores. TGF-α: factor de crecimiento transformante-α (***T**ransforming **G**rowth **F**actor*); HB-EGF: factor de crecimiento análogo al EGF de unión a la heparina (***H**eparin-**B**inding **EGF**); AR: anfirregulina; BTC: β-celulina; EPR: epirregulina.*

sada por metaloproteasas para liberar el péptido soluble. La organización estructural de la EPR es similar a la del TGF-α **(Figura 20)**.

4.1.2. Biosíntesis

El EGF se sintetiza en las glándulas salivales submaxilares, donde estimula la erupción dentaria, en la membrana apical de las células límbicas renales, en las glándulas exocrinas gastrointestinales y en los acini serosos de la cavidad nasal. Las metaloproteasas implicadas en el procesamiento del prepro-EGF no han sido identificadas todavía, pero los ionóforos de calcio estimulan la secreción de la forma activa.

La AR se identificó inicialmente en una línea celular procedente de un adenocarcinoma mamario. El prefijo "anfi" hace alusión a que este factor estimula el crecimiento de algunos tipos celulares, pero inhibe el de otros, tanto normales como transformados. La AR se sintetiza en células epiteliales polarizadas y se segrega por la membrana basolateral. La modificación postraduccional que sufre este péptido durante la biosíntesis hace que aparezcan varias isoformas, tanto en la superficie celular como solubles, con actividades biológicas diferentes.

La BTC se identificó inicialmente en una línea tumoral de células β pancreáticas, pero posteriormente se ha demostrado que se expresa en una amplia variedad de células epiteliales y mesenquimales del adulto, siendo mayor su presencia en el páncreas, el hígado, el riñón y el intestino delgado, y menor en el corazón, el pulmón, el colon, los testículos y el ovario.

La EPR se purificó inicialmente de una línea celular tumoral de fibroblastos de ratón pero se expresa en la placenta, en los leucocitos periféricos y en carcinomas de vesícula biliar, pulmón, riñón, páncreas y colon. Asimismo, es un factor de crecimiento para los queratinocitos normales.

Los genes de los factores TGF-α, HB-EGF, AR y BTC tienen una estructura similar y están constituidos por seis exones. El exón 1 codifica una región no traducible y el péptido señal; el exón 2, el precursor del extremo N-terminal; el exón 3, el

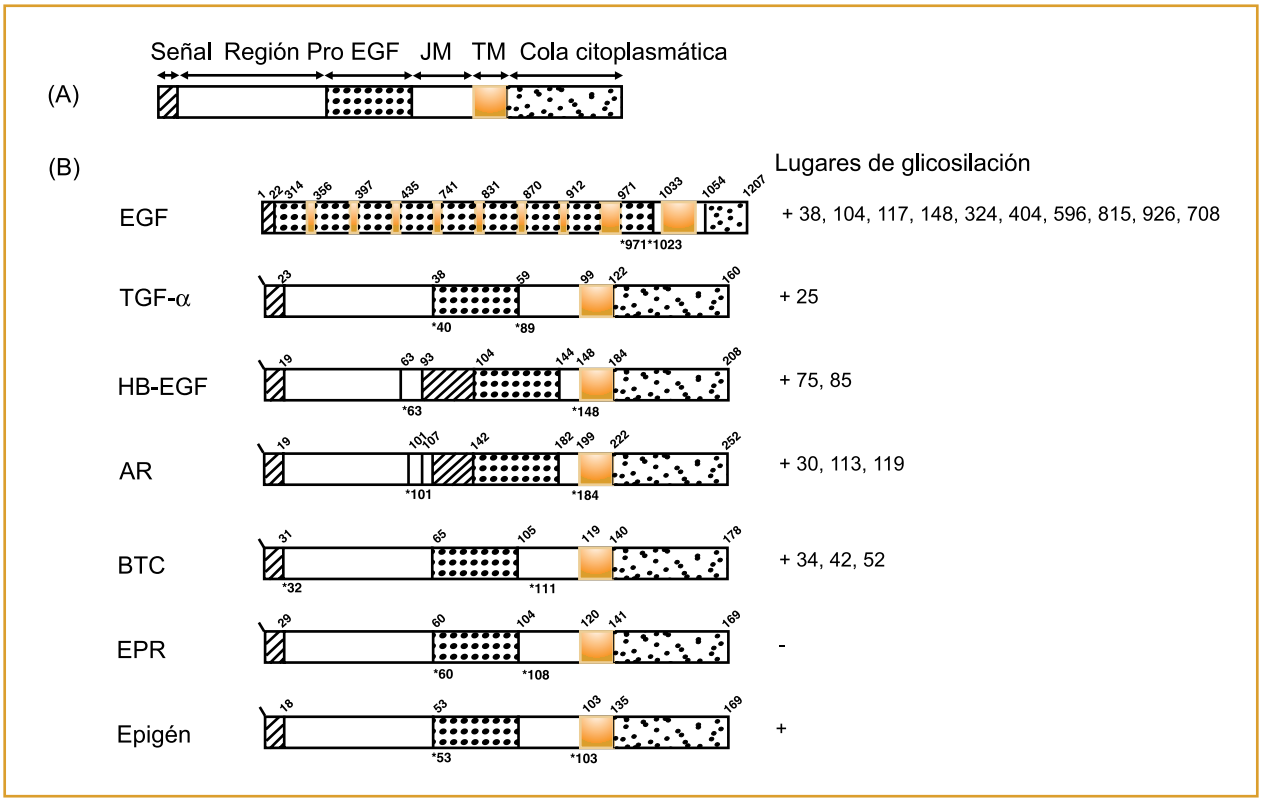


Figura 20. *Regiones conservadas en la familia de factores de crecimiento epidérmico (EGF). TGF-α: factor de crecimiento transformante-α (***T***ransforming* ***G****rowth* ***F****actor); HB-EGF: factor de crecimiento análogo al EGF de unión a la heparina (***H****eparin-****B****inding* ***EGF****); AR: anfirregulina; BTC: β-celulina; EPR: epirregulina.*

péptido maduro con los dos primeros puentes disulfuro del motivo EGF; el exón 4, el tercer puente disulfuro y el dominio transmembrana; el exón 5, el dominio citoplasmático; y el exón 6, la región no traducible 3'. La proximidad de los genes de los factores AR, BTC y EPR en el cromosoma 4 sugiere que se han formado por duplicación génica.

4.1.3. Efectos biológicos

Como se ha indicado anteriormente, el EGF es esencial para el desarrollo del embrión, estando relacionado con la génesis de varios órganos derivados del ectodermo y del mesodermo tales como el cerebro, el corazón y el pulmón. De hecho, las alteraciones genéticas en sus receptores son letales. Sin embargo, no parece desempeñar un papel tan fundamental en el organismo adulto. Por otra parte, parece bastante claro que el EGFR interviene en el desarrollo y la progresión del cáncer, ya que la expresión aberrante de EGFR o de sus ligandos es frecuente en numerosos tipos de tumores y se correlaciona con un pronóstico peor y con una enfermedad tumoral más agresiva, contribuyendo a la proliferación celular, a la supervivencia de las células tumorales, a la angiogénesis, a la invasión y a las metástasis. Actualmente, se han desarrollado varias estrategias para inhibir la actividad del EGFR y con ello disminuir la actividad tumoral; entre las más importantes está el uso de inhibidores de tirosina kinasas, como el Geftinib y el OSI-774, ambos compuestos de la clase de las anilino-quinazolinas.

La captura local del TGF-α por su receptor desempeña un papel crucial en diversos procesos biológicos tales como la organización de los folículos pilosos en los mamíferos. Asimismo, si no se produce la captación en la cubierta externa de la raíz del pelo, el TGF-α puede difundir y actúa como un factor quimiotáctico para las células dérmicas adyacentes, contribuyendo a la formación de erupciones acneiformes.

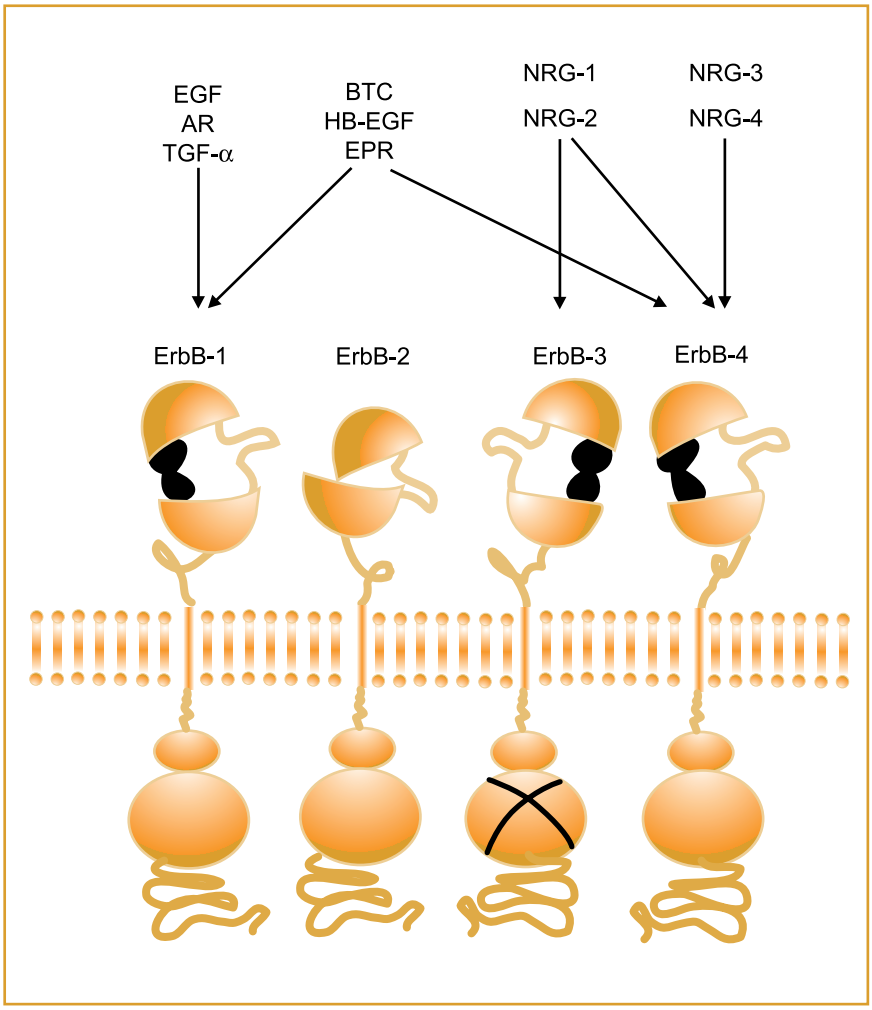


Figura 21. *Receptores de los factores de crecimiento epidérmico (EGF). TGF-α: factor de crecimiento transformante-α (***T**ransforming **G**rowth **F**actor*); HB-EGF: factor de crecimiento análogo al EGF de unión a la heparina (***H**eparin-**B**inding **EGF**); AR: anfirregulina; BTC: β-celulina; EPR: epirregulina.*

El HB-EGF parece estar implicado en la curación de heridas, la implantación de los blastocistos en el útero, la hiperplasia de las células musculares lisas en la aterosclerosis y en el crecimiento de tumores. Las acciones mitogénicas de este factor de crecimiento aumentan cuando el ligando se asocia con proteoglicanos del tipo del heparán sulfato, presumiblemente porque la interacción con la zona del grupo amino terminal estabiliza la unión del factor con su receptor. Asimismo, se ha observado que el HB-EGF interacciona con una glicoproteína de membrana denominada CD44, cuyo dominio citoplasmático se asocia a la actina del citoesqueleto y que está implicada en el desarrollo de metástasis tumorales. Además, interacciona con otra proteína de superficie (CD9) que desempeña un papel fundamental en las relaciones celulares a través de su interacción con integrinas, especialmente del tipo β_1, que desempeñan un papel fundamental en la adhesión de las células a la matriz extracelular y entre las propias células.

La AR estimula el crecimiento de numerosas líneas celulares, normales y transformadas, pero también inhibe el crecimiento de otras líneas cancerosas. Las modificaciones postraduccionales que tienen lugar durante la síntesis generan diferentes isoformas solubles y de proteínas asociadas a la membrana, lo que podría explicar sus funciones biológicas diferentes. De forma similar al HB-EGF, se asocia a proteoglicanos y a proteínas de la superficie celular como CD9.

La pro-BTC parece también actuar como señal en la interacción yuxtacrina celular, y la EPR es un factor de crecimiento para los queratinocitos humanos.

4.1.4. Receptores y mecanismo de acción

El EGFR se sintetiza en forma de un polipéptido precursor que es hidrolizado dando lugar a una proteína con cuatro dominios, que se inserta en la membrana **(Figura 21)**. El EGFR regula los efectos intracelulares de los ligandos EGF, TGF-α, HB-EGF, AR, BTC y epigén. Desde hace bastantes años se sabe que la unión de un ligando al ectodominio del receptor ocasiona la dimerización de este último, y que esto hace aumentar la actividad tirosina kinasa de su dominio intracelular **(Figura 22)**. La EGF kinasa cataliza la transferencia de un gru-

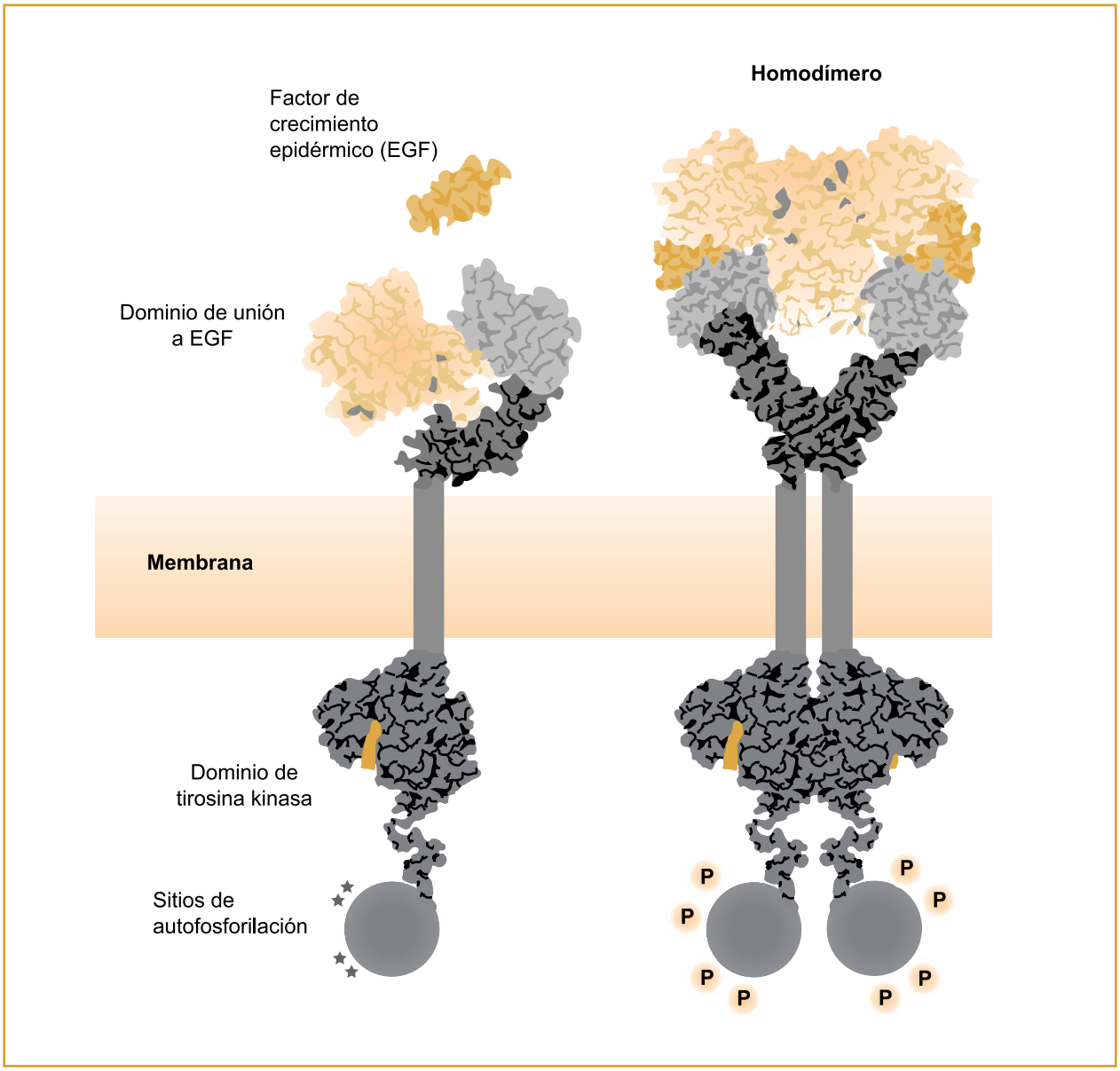


Figura 22. *Unión del factor de crecimiento epidérmico (EGF) a su receptor y dimerización.*

po fosfato en posición γ del ATP a los restos de tirosina del propio receptor y de otros sustratos exógenos. Después de la inducción de la fosforilación se desencadenan una serie de vías de señalización intracelular que comienzan con el reconocimiento de una serie de moléculas adaptadoras (*ver Capítulo 1.5*).

La unión del ligando y la activación de la EFG kinasa también induce la migración del EGFR desde las caveolas a la membrana plasmática y la formación de complejos en las vesículas cubiertas de clatrina, que son rápidamente internalizadas. El EGFR interacciona con moléculas de igual naturaleza y con los homólogos ErbB2, EbrB3, y ErbB4, también denominados HER2, HER3 y HER4. La intensidad y la duración de la señalización intracelular está controlada por la internalización y reciclado de los receptores, que puede modularse por la heterodimerización en la superficie celular y por la asociación con otras moléculas de señalización celular.

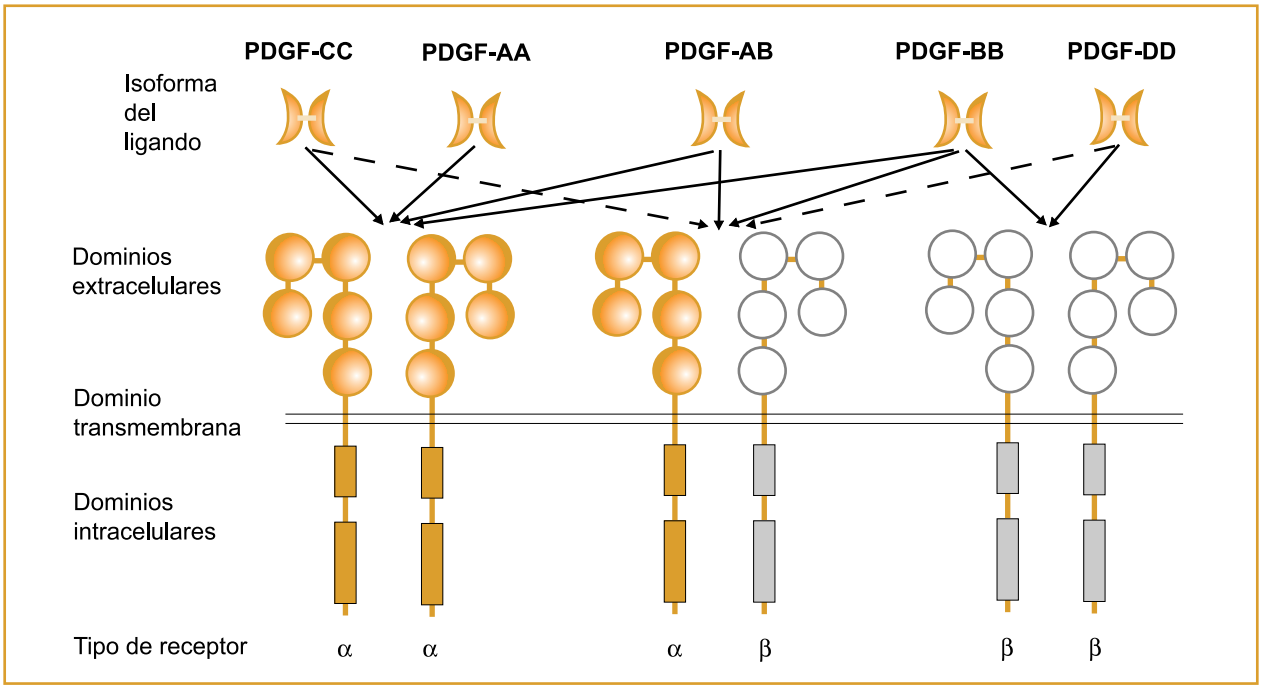


Figura 23. *Ligandos y receptores de la familia del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF).*

4.2. Familia del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF: *Platelet-Derived Growth Factor*)

La familia del factor de crecimiento PDGF presenta actividad mitogénica para los fibroblastos, las células musculares y algunos otros tipos celulares, fundamentalmente de origen mesenquimal. Conjuntamente con los factores de crecimiento del endotelio vascular (VEGF: ***V****ascular* ***E****ndothelial* ***G****rowth* ***F****actor*) forman una superfamilia caracterizada por la conservación de un dominio estructural conocido como PDGF/VEGF. Originalmente, el PDGF se aisló de la sangre, siendo los gránulos α de las plaquetas un lugar de almacenamiento mayoritario.

Numerosos estudios han demostrado que los PDGF y sus receptores son mitógenos obligados en el desarrollo embrionario y críticos para la fisiología del adulto. Hasta ahora se han identificado cuatro miembros de la familia, designados PDGF-A, -B, -C y -D.

4.2.1. Estructura

Los PDGF clásicos, denominados PDGF-A y PDGF-B, son una familia de homo y heterodímeros de cadenas polipeptídicas de tipo A y B unidas por puentes disulfuro. Las partes maduras de ambas cadenas tienen alrededor de 100 residuos aminoacilo y muestran una homología del 60%. Entre las dos cadenas se conservan ocho restos de cisteína. Los restos segundo y cuarto sirven de unión entre cadenas, y los restantes forman puentes disulfuro intracatenarios. Estos restos de cisteína también se conservan en los VEGF. La estructura tridimensional del homodímero PGDF-BB no sólo es similar a la del VEGF, sino que también muestra una gran similitud con el factor de transformación β (TGF-β) y con el factor de crecimiento nervioso (NGF).

Los factores de crecimiento conocidos más recientemente, PDGF-C y PDGF-D, son polipéptidos de 345 y 370 aminoácidos, respectivamente, que comparten con el resto de la familia un dominio VEGF/PDGF y que presentan un dominio típico de subcomponentes del complemento y de las proteínas morfogénicas óseas, denominado dominio CUB, en el extremo N-terminal. Este dominio modula la actividad de dichos factores de crecimiento. Los homodímeros del PDGF-C presentan una elevada afinidad por el PDGFR-α, mientras que los del PDGF-D lo hacen por el PDGFR-β. La **Figura 23** muestra un esquema de los PDGF y de sus receptores.

4.2.2. *Biosíntesis*

Tanto la cadena A como la B son sintetizadas en forma de moléculas precursoras que sufren un proceso proteolítico posterior en el extremo amino terminal y, en el caso de la cadena B, también en el extremo carboxi-terminal; las cadenas no están glicosiladas, y tanto los cultivos de células como las plaquetas humanas presentan tres isoformas (AA, BB y AB), lo que indica que el ensamblaje de los dímeros de PDGF ocurre aleatoriamente.

Los genes de las cadenas A y B se localizan en los cromosomas 7 y 22, respectivamente, y están organizados de forma similar en siete exones. En cada caso, el exón 1 codifica la secuencia señal; los exones 2 y 3 las secuencias precursoras que son eliminadas durante el procesamiento; y los exones 4 y 5 la mayor parte de las proteínas maduras. El exón 6 codifica la secuencia carboxi-terminal, que es eliminada en la cadena B, y el exón 7 es una región no codificante.

Los genes correspondientes a los PDGF-C y D están localizados en los cromosomas 4q32 y 11q22.3 y tienen estructuras muy similares a los de los factores A y B, en términos de número y tamaño de los exones; el PDGF-C tiene seis exones; y el D, como los clásicos A y B, siete.

La expresión de PDGF aumenta en respuesta a estímulos externos, tales como la presión parcial de oxígeno, la trombina o la estimulación de la célula con varios factores de crecimiento o citokinas. La expresión de PDGF-A también aumenta de manera fisiológica en el músculo uterino durante la gestación. La mayoría de las células que expresan PDGF sintetizan tanto la cadena A como la B, pero la expresión de ambas está regulada independientemente tanto al nivel de la transcripción como al postranscripcional. En ambos genes la transcripción se regula por elementos positivos y negativos.

Los PDGF no sólo interaccionan con moléculas de la matriz extracelular, sino también con proteínas solubles. Como otros factores de crecimiento, el PDGF-BB, pero no el PDGF-AA, se une a la α_2-macroglobulina, regulando la cantidad disponible para la interacción con los receptores

4.2.3. *Efectos biológicos*

Los PDGF actúan fundamentalmente como factores mitogénicos. Son también agentes quimiotácticos para varios tipos celulares y funcionan, además, reorganizando la actina y previniendo la apoptosis. Desempeñan, por tanto, funciones importantes durante la embriogénesis, particularmente en el desarrollo de los riñones, los vasos sanguíneos, los pulmones y el sistema nervioso central. En estos órganos, las células del tejido conectivo, incluyendo las células mesangiales, las células perivasculares de los vasos, los fibroblastos alveolares y las células gliales, dependen de la presencia de los PDGF. Asimismo, la actividad de los PDGF es esencial para la formación de nuevos tejidos, y es fundamental en los procesos de curación de las heridas.

La inactivación de estos factores de crecimiento o de sus receptores conduce a la muerte del feto, lo que indica su importancia en el proceso del desarrollo embriológico. Los animales con el PDGF-A alterado presentan defectos en la formación de los alvéolos, coincidiendo con la falta de células musculares lisas, anormalidades en los oligodendrocitos, en la piel y los folículos pilosos, dismorfogénesis de las vellosidades intestinales y pérdida de las células de Leydig en los testículos. La deleción del gen del PDGF-B genera un fenotipo caracterizado por la pérdida de células mesangiales de los glomérulos renales, aumento del tamaño y de la trabeculación del corazón, ausencia de vasos sanguíneos pericelulares y dilatación y aneurismas en los grandes vasos. La inactivación del gen *PDGFR*-α conduce a un fenotipo embriónico letal en comparación con la deleción de los genes correspondientes a los PDGF-A y -B.

En el adulto, la actividad incrementada de los PDGF se asocia a varias patologías como la fibrosis, la aterosclerosis y la tumorogénesis. De hecho, existe actividad incrementada de estos factores en los glioblastomas y en los sarcomas, así como en la fibrosis pulmonar, renal y hepática, y en la mielofibrosis.

En la especie humana, el PDGF-C se expresa en muchos órganos en cantidad elevada, especialmente en el corazón, el páncreas, el riñón y los ovarios. La expresión del PDGF-D es usualmente mucho menor que la del PDGF-C, y éste se coexpresa con los PDGF-A y -B. Estos factores presentan varias isoformas dependiendo del tejido, que se corresponden con al menos tres transcritos de diferente tamaño.

La sobreexpresión del PDGF-C en el corazón da lugar a hipertrofia cardiaca y fibrosis, debido a la

expansión de los fibroblastos del intersticio cardiaco. Por tanto, este factor parece estar implicado en la fisiopatología de algunas alteraciones cardiacas. Además, el PDGF-C, en oposición al factor -A, es un potente factor angiogénico de la córnea.

Todos los PDGF están relacionados estructuralmente con el oncogén *v-sis* (del virus del sarcoma de los simios), aunque es el PDGF-B el que exhibe una mayor actividad transformante. No obstante, toda la familia de los factores PDGF actúa de forma autocrina en la estimulación del tumor y de forma paracrina en las células circundantes al tumor. Como los PDGF-A y -B, los PDGF-C y -D se expresan también en numerosos tumores y líneas celulares tumorales.

4.2.4. Receptores y mecanismo de acción

Las isoformas de los PDGF ejercen sus efectos por interacción con dos receptores de tirosina kinasa relacionados estructuralmente, denominados PDGFR-α y PDGFR-β. Cada uno de ellos contiene cinco dominios de tipo inmunoglobulina, un dominio transmembrana y dos dominios intracelulares, uno de ellos con actividad tirosina kinasa **(Figura 23)**. Las estructuras de estos factores presentan similitud con la de otros receptores para factores de crecimiento, como el del factor estimulador de colonias 1 (CSF-1) y el del factor de las células madre -o pluripotenciales- (SCF).

Los receptores no se encuentran distribuidos uniformemente en la membrana celular, sino que se concentran en las caveolas, invaginaciones de la membrana implicadas en los procesos de endocitosis.

El gen del receptor α está situado en el cromosoma 4, cercano a los genes del receptor del SCF, y el del receptor β en el cromosoma 5, cercano al del receptor del CSF-1.

Como los PDGF son dímeros, se unen a dos moléculas de receptor de manera simultánea haciendo que los receptores también se unan como dímeros. El receptor α se une tanto a la cadena A como a la B, mientras que el receptor β sólo se une a la cadena B. Por tanto, el PDGF-AA induce la formación de receptores αα, el PDGF-AB receptores αα o αβ y el PDGF-BB receptores ββ **(Figura 23)**.

La unión de los PDGF a sus receptores provoca su autofosforilación en el dominio de tirosina kinasa, aumentando la eficiencia catalítica de las kinasas. Por otra parte, la fosforilación de otros restos de tirosina localizados fuera del dominio kinasa crea nuevos sitios de unión para otras moléculas que contienen dominios SH2, algunas de ellas con actividad enzimática como la fosfatidil-inositol-3 kinasa, la fosfolipasa C, la familia Src de tirosina kinasas, la tirosina fosfatasa SHP-2 y una GTP-asa activadora del gen Ras; otras moléculas, como Grb2 y Grb7, no tienen actividad enzimática (*ver Capítulo 1.5*). A los receptores activados también se unen factores de transcripción de la familia STAT.

La interacción de los receptores activados con diferentes moléculas hace que aparezcan varias vías de señalización intracelular y, por consiguiente, diferentes respuestas celulares. La unión de los receptores a los ligandos provoca la internalización celular de los primeros en forma de endosomas. El complejo ligando-receptor se disocia y el receptor se recicla de nuevo a la membrana plasmática o, alternativamente, es digerido por los endosomas fusionados con lisosomas. Esta última vía es la más habitual.

4.3. Familia del factor de crecimiento transformante β (TGF-β: *Transforming Growth Factor*-β)

La superfamilia de factores de crecimiento TGF-β está ampliamente representada en el reino animal y comprende más de 40 miembros que filogenéticamente pueden dividirse en dos grandes grupos. El primero está constituido por las isoformas del TGF-β, las activinas y las inhibinas. El segundo está constituido por las proteínas morfogénicas del hueso (BMP: ***B**one **M**orphogenetic **P**roteins*) y los factores de diferenciación (GDF: ***G**rowth **D**ifferentiation **F**actors*). Éstos pueden clasificarse en varios subgrupos en función de su similitud en las secuencias de aminoácidos y de su relación con la evolución y conservación desde los organismos primitivos.

Los miembros de esta superfamilia son moduladores clave de la proliferación y diferenciación celular e intervienen en la regulación de la síntesis de las proteínas de la matriz extracelular y en la apop-

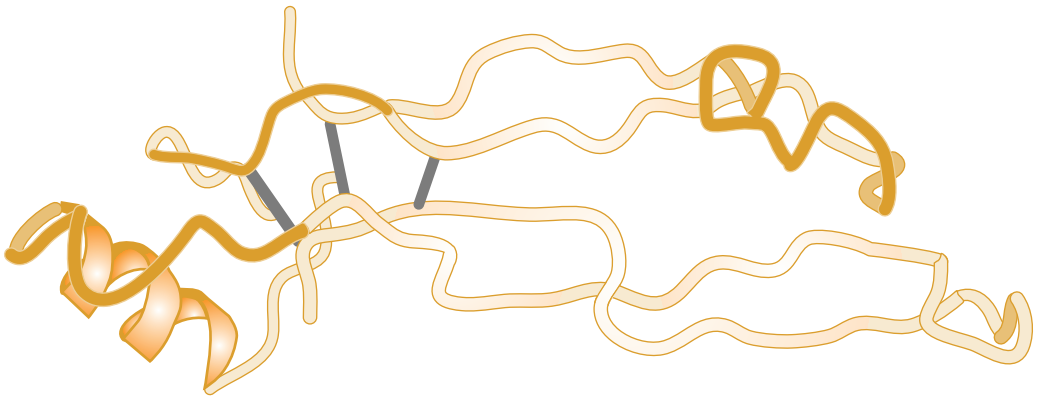


Figura 24. *Estructura de la familia de factores transformadores del crecimiento β (TGF-β).*

tosis. Asimismo, desempeñan un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo pre y posnatal, así como en el remodelado óseo y en el mantenimiento de la integridad de numerosos órganos y tejidos. Por otra parte, el TGF-β tiene un papel fundamental en el sistema inmune. En el caso de las BMP, los miembros de la familia son conocidos por otros nombres, por ejemplo: osteogenina (BMP-3), proteína osteogénica-1 u OP-1, y proteína morfogenética derivada del cartílago 1 (BMP-14).

4.3.1. Estructura

Las características estructurales comunes de esta familia de factores de crecimiento son:

a) El ligando funcional es un homodímero o un heterodímero constituido por dos cadenas peptídicas de 12 a 15 kDa unidas por un puente disulfuro, denominadas monómeros.

b) Cada monómero es la parte del extremo carboxi-terminal que contiene una secuencia N-terminal necesaria para la secreción y un precursor peptídico de aproximadamente 300 aminoácidos.

c) La estructura de cada monómero contiene un dominio C-terminal con siete cisteínas muy conservadas a lo largo de la evolución. Una de ellas es utilizada para la formación del puente disulfuro entre cadenas, y las otras están implicadas en la formación de un anillo intramolecular conocido como configuración en "lazo de cisteínas". Dicha configuración obliga a la exposición de restos hidrofóbicos al agua y previene que la molécula adquiera una conformación típica de estructura globular, lo que conduce a la formación de dímeros estables en forma de mariposa **(Figura 24)**. Este motivo estructural también se encuentra en otras familias de factores de crecimiento y citokinas como el PDGF, el factor de crecimiento nervioso (NGF: ***N****erve* ***G****rowth* ***F****actor*) y la interleukina 17 (IL-17).

En el caso de las BMP, se conservan las secuencias de especies de mamíferos diferentes. Por ejemplo, en el ratón, la rata y la especie humana, las BMP-10 y 11 son idénticas.

4.3.2. Efectos biológicos

El TGF-β tiene una función crítica en el sistema inmune, especialmente como inmunorregulador negativo, suprimiendo la proliferación y la producción de citokinas por los linfocitos y macrófagos. Asimismo, potencia la inflamación y es quimioatrayente para los neutrófilos y monocitos. Además, el

TGF-β desempeña un papel esencial en el desarrollo de tolerancia oral a los antígenos.

La alteración de la actividad de los TGF-β se traduce en una amplia variedad de manifestaciones clínicas, como crecimiento de células tumorales, fibrosis, defectos del esqueleto y enfermedades autoinmunes.

Tal y como se deriva de su nombre, las BMP inician, promueven y regulan el crecimiento, desarrollo, reparación y remodelado óseos. Por otra parte, y con independencia de su papel en la morfogénesis ósea y del cartílago, las BMP están involucradas en el crecimiento y desarrollo prenatales del ojo, corazón, pulmón, riñón, piel y otros tejidos.

Los usos potenciales de las BMP en el tratamiento de algunas patologías del cartílago han hecho que la investigación sobre su papel aumente, y que se extiendan sus aplicaciones. Algunas de ellas, como la BMP-2 y la BMP-7, se utilizan en la reparación de tejidos óseos dañados. Por ejemplo, recientemente se ha desarrollado un sustituto de implante óseo, denominado OP-1 TM, constituido por BMP-7 humana recombinante combinada con colágeno óseo bovino, que ha sido aprobado por la ***F**ood and **D**rug **A**dministration* (FDA) de los EE UU para el tratamiento de las fracturas que no curan después de un periodo de tiempo normal. Las aplicaciones de otras BMP en ortopedia y ortodoncia aumentan día a día.

4.3.3. Receptores y mecanismo de acción

La característica estructural más importante de los receptores de TGF-β es la existencia de un motivo estructural en el dominio extracelular que se asemeja a tres dedos de una mano. Además, hay un dominio transmembrana simple y un dominio intracelular con actividad serina-treonina kinasa. Existen dos tipos de receptores, denominados I y II, que se distinguen por la secuencia conservada de los dominios kinasa, y por una región junto a la membrana de glicina-serina, en el caso del receptor tipo I, que es fundamental para su activación. A su vez, los receptores de tipo I se subdividen en tres grupos, en función de las interacciones con los ligandos dominantes, y los del tipo II en seis subgrupos que se unen fundamentalmente a activina, BMP y GDF.

La señalización celular por miembros del TGF-β implica la unión cooperativa de un ligando a los componentes de tipo I y II de un receptor transmembrana, lo que induce el ensamblaje de un complejo con actividad serina-treonina kinasa. El complejo desencadena una cascada de transducción de señales a causa de la fosforilación de unas proteínas citoplasmáticas denominadas Smads, que se introducen en el núcleo por translocación y actúan activando o suprimiendo la expresión de varios genes (*ver Capítulo 1.5*).

La accesibilidad de los ligandos a los receptores de TGF-β está muy bien controlada por una serie de proteínas ubicadas en la membrana celular, entre las que se encuentran las denominadas proteínas BAMBI (***B**MP and **A**ctivin **M**embrane-**B**ound **I**nhibitor*). Estas proteínas forman complejos estables con los receptores de tipo II inhibiendo las señales de BMP y de activina. Otro tipo de regulación de la actividad del receptor, distribuido más ampliamente, es la interacción de los ligandos con proteínas solubles, las cuales representan una forma de almacenamiento extracelular de los ligandos y de control de las concentraciones locales de TGF-β.

Después de la dimerización del precursor del TGF-β, los enlaces entre el propéptido y el ligando maduro son hidrolizados por una proteasa del tipo de las furinas. Sin embargo, los dos polipéptidos diméricos resultantes se mantienen asociados por interacciones no covalentes y se segregan como un complejo. La porción correspondiente al propéptido de este complejo, denominada proteína asociada de latencia (LAP: ***L**atency-**A**ssociated **P**rotein*), hace que el ligando maduro sea biológicamente inactivo, impidiendo su acceso al receptor. Dependiendo de los tipos de TGF-β, la LAP puede ser la proteína extracelular más importante que inhibe la acción del ligando, como ocurre en el TGF-β1, o bien puede unirse a otras proteínas, como ocurre con la activina. Alternativamente, los complejos de TGF-β y LAP pueden unirse a otras glicoproteínas mediante enlaces disulfuro y formar complejos latentes de TGF-β (LTBP: ***L**atent **T**GF-β **B**inding **P**roteins*).

La liberación controlada de los ligandos maduros de TGF-β a partir de los LTBP implica mecanismos proteolíticos e inducción de cambios en la estructura tridimensional, provocados por otras proteínas como la trombospondina-1.

Una vez liberados de los complejos de latencia, los ligandos maduros de TGF-β también pueden

ser interceptados por una serie de proteínas difusibles que impiden su acceso a los receptores. La expresión de estos antagonistas naturales está regulada por las propias proteínas de unión a TGF-β. Así, la interacción entre TGF-β y sus antagonistas desempeña un papel fundamental en la regulación de los procesos del desarrollo, en los que la respuesta de las células varía considerablemente dependiendo de la concentración local de la molécula de señalización. La lista de antagonistas de los TGF-β es cada vez mayor y abarca proteínas tales como la cordina, la nogina, la esclerotina, la folistatina, la decorina y la α-macroglobulina, las cuales presentan afinidades diferentes para los distintos miembros de la familia de TGF-β.

4.4. Sistema de factores de crecimiento análogos a la insulina (IGF: *Insulin-like Growth Factors*)

Los IGF, también denominados somatomedinas, son polipéptidos que regulan el crecimiento, la diferenciación y la supervivencia de numerosos tejidos y tipos celulares. El sistema de IGF incluye ligandos, como los IGF-I y -II, receptores, como los IGF-IR y -IIR, proteínas de unión a IGF, IGFBP (*Insulin-like Growth Factor Binding Protein*) 1 a 7, y proteasas de IGFBP. Este sistema regula el crecimiento pre y posnatal y el establecimiento y mantenimiento del estado diferenciado de las células a través de procesos de señalización celular endocrina, paracrina y autocrina.

Todos los componentes del sistema IGF se encuentran tanto en el sistema nervioso central (SNC) como en la periferia. Los IGF y las IGFBP se sintetizan localmente en el SNC pero también pueden proceder de la circulación sistémica. Así, parece que existe un sistema de transporte de IGF al cerebro. Los receptores de los IGF se encuentran en todas las regiones del cerebro y en otros tejidos periféricos, como el tejido muscular y el tejido adiposo.

El sistema IGF influye en la reproducción, particularmente a través de la hormona liberadora de la gonadotropina (GnRH: *Gonadotropine Releasing Hormone*), un decapéptido hipotalámico que regula la liberación de gonadotropina por la hipófisis. También influye sobre el crecimiento, a través de su acción mediadora sobre la hormona del crecimiento (GH: *Growth Hormone*). Estos efectos y los que se producen sobre la liberación de otras hormonas, como los glucocorticoides, las hormonas tiroideas y la insulina, explican la importancia de este sistema para el organismo.

4.4.1. Estructura

El IGF-I está constituido por una sola cadena polipeptídica de 70 aminoácidos que contiene tres puentes disulfuro intracatenarios, los cuales dan a la molécula la forma de un bucle similar al formado por la proinsulina. Los residuos 1 a 29 del IGF-I presentan grandes homologías con los residuos 2 a 30 de la cadena B de la insulina, mientras que los residuos 42 a 62 son homólogos de los aminoácidos 1 a 21 de la cadena A de esa hormona. Por el contrario, no existe ninguna analogía entre el péptido de conexión (péptido C) de la proinsulina y la parte correspondiente de IGF-I.

El IGF-II está constituido por 67 aminoácidos, de los cuales, 45 son idénticos a los de IGF-I. La principal diferencia es su punto isoeléctrico, neutro, mientras que el del IGF-I es básico.

4.4.2. Biosíntesis

La síntesis de IGF-I durante la vida adulta tiene lugar preferentemente en el hígado, pero también se sintetiza en menor grado en un gran número de tejidos y órganos como intestino, riñón, pulmón, corazón, testículos y SNC. Sin embargo, prácticamente todos los tejidos tienen capacidad de sintetizar este factor de crecimiento durante el desarrollo fetal. Algo similar ocurre con el IGF-II, cuya expresión disminuye al aumentar la edad fetal en todos los tejidos, excepto el cerebro, donde se expresa de forma predominante en las células gliales, las leptomeninges y los plexos coroideos.

Los genes que codifican para IGF-I y II se encuentran en los cromosomas 12 y 11, respectivamente. En este último cromosoma se encuentra también el gen que codifica para la insulina. El gen del IGF-II codifica para un polipéptido precursor de 180 aminoácidos, denominado pre-pro-IGF-II, en el que la secuencia correspondiente al IGF-II maduro de 67 aminoácidos está comprendida entre los aminoácidos 25 y 92. Los aminoácidos 1 a

24 constituyen la secuencia señal y los residuos 93 a 180 una extensión C-terminal cuyo papel no es bien conocido. El gen de IGF-I codifica para un precursor de 130 aminoácidos en el que la secuencia señal de 25 aminoácidos precede a los 70 residuos aminoacilo del factor de crecimiento.

El bloqueo de la expresión de IGF-I y el de su receptor conducen a un grave retraso del crecimiento prenatal y posnatal con afectación importante del crecimiento del esqueleto y del tejido muscular. Por otra parte, la manipulación del gen de IGF-II en ratones ha permitido observar que la represión génica, por un factor de aproximadamente 10, da lugar a un retraso en el crecimiento intrauterino de aproximadamente un 40%, y la sobreexpresión genera un crecimiento somático excesivo. Así pues, parece que el IGF-II es esencial para el crecimiento embrionario y el IGF-I para el desarrollo de estadios fetales posteriores.

La síntesis de IGF-I está regulada por el aporte dietético energético y proteico, y, a partir del año de vida extrauterina, de una forma clara por la GH. En efecto, el IGF-I se ha propuesto como mediador de los efectos de la GH para promover el crecimiento en longitud del organismo. Además, en otros tejidos como las gónadas, las glándulas suprarrenales y el hueso, la síntesis del EGF-1 es estimulada por sus hormonas tróficas específicas, gonadotropinas, hormona adrenocorticotropa (ACTH), parathormona (PTH) y calcitriol, respectivamente. Los niveles plasmáticos disminuyen tras el ayuno agudo y, de una forma crónica, en las situaciones de desnutrición, siendo responsable de estos cambios la disminución del aporte de aminoácidos, la hipoinsulinemia y cierto grado de resistencia periférica a la acción de la GH.

La síntesis de IGF-II parece relativamente independiente de las tasas de GH, dado que las concentraciones plasmáticas de este factor no están modificadas en caso de aumento de dicha hormona. Como la secreción de IGF-II aumenta progresivamente durante la gestación, podría estar regulada por la acción del lactógeno placentario.

La secreción de los IGF está regulada también por los glucocorticoides, las hormonas tiroideas, la insulina y algunas citokinas.

Los glucocorticoides modulan los niveles de IGF, de sus proteínas de transporte y de sus receptores. Así, la secreción aguda de cortisol mediada por situaciones de estrés tiene un efecto inhibidor sobre la secreción de IGF-I en el hombre y sobre la síntesis del receptor de la IGF-II en cultivos de condrocitos Además, la exposición crónica a concentraciones elevadas de glucocorticoides hace descender las concentraciones plasmáticas de GH y de IGF-I, pudiendo contribuir a las alteraciones músculo-esqueléticas asociadas con algunas enfermedades crónicas.

Las hormonas tiroideas son importantes reguladores de la expresión de IGF en el periodo prenatal, y la triyodotiroxina (T_3) aumenta la concentración de IGF-I en las células hipotalámicas fetales. Asimismo, las hormonas tiroideas regulan la expresión de los receptores de la IGF-II en la hipófisis.

Algunas citokinas, como el factor de necrosis tumoral α (TNF-α) y las interleukinas 1 y 6 (IL-1 e IL-6), antagonizan la producción de IGF en los estados de enfermedad crónica, lo cual tiene un efecto negativo sobre la función reproductora y sobre el crecimiento. Asimismo, algunos factores de crecimiento, como el TGF-β1, también ejercen efectos antagonistas sobre los IGF ya que hacen descender el número de receptores de IGF-I, la densidad de los receptores de gonadotropina y la expresión de la enzima esteroide 17-α hidroxilasa.

La importancia de la insulina como regulador del sistema IGF viene dada por el hecho de que en algunas situaciones patológicas como la diabetes mellitus, a pesar de la elevación de la GH, los niveles de IGF-I permanecen muy bajos. Así, la insulina influencia la síntesis y secreción de IGF-I con independencia de los efectos de la GH. Además, la insulina regula la expresión de los receptores del IGF-I.

Los IGF circulan en sangre unidos a proteínas de transporte (IGBP) de las cuales se han identificado seis. La biosíntesis de las números 1, 2 y 3 tiene una regulación nutricional. La 1 y, en menor grado, la 2 son reguladas inversamente por los niveles de insulina mientras que la 3 está regulada fundamentalmente por la GH, el propio IGF-I y el estado nutricional. Así, se encuentran niveles elevados de IGF-I en la obesidad y niveles disminuidos en la desnutrición. Un 80% de los IGF se encuentra en forma de complejos ternarios unidos a la IGBP-3 y a otra glicoproteína denominada unidad ácido-lábil, y el resto está en forma de pequeños complejos unidos a cualquiera de las otras IGBP. Como no se conoce el sitio de almacenamiento tisular de estos factores, es probable que los complejos circulantes representen por sí solos las reservas.

4.4.3. *Efectos biológicos*

El conocimiento de la existencia de los IGF se remonta a 1957, cuando se estableció por primera vez su efecto estimulante relacionado con la incorporación de sulfato en los proteoglicanos del cartílago. En efecto, los IGF estimulan la proliferación de los condrocitos y de los fibroblastos en cultivo. Sin embargo, el efecto mitogénico es poco acentuado cuando estos efectores se añaden solos al medio de cultivo. No obstante, los efectos se alcanzan plenamente en presencia de otros factores, como el PDGF.

Además de los efectos mitogénicos, los IGF poseen efectos metabólicos que tienden a aumentar el crecimiento. Por ejemplo, estimulan el transporte de aminoácidos y la síntesis de proteínas en las células musculares lisas, la síntesis de colágeno y de proteoglicanos en los condrocitos y la síntesis de colágeno y de otras proteínas en los cultivos de tejido óseo.

Por su similitud estructural con la insulina, los IGF son capaces de reproducir parte de sus efectos metabólicos, en particular la estimulación del transporte y degradación de la glucosa, así como la síntesis de glucógeno y la lipogénesis. No obstante, la fijación de los IGF a las proteínas de transporte IGBP, haciendo que no puedan interaccionar con el receptor insulínico, explica que estos factores no sean responsables sino de una muy pequeña parte de los efectos metabólicos de la insulina (1-2%).

En numerosas especies, incluyendo la rata y los primates, los niveles séricos de IGF-I aumentan durante la pubertad. Parece que el IGF-I influencia el eje hipotalámico-hipofisario facilitando los cambios asociados a la liberación de gonadotropinas y actuando como un indicador metabólico de madurez sexual.

Por otra parte, los IGF desempeñan un papel fundamental en la regulación de la síntesis de las hormonas esteroideas, ya que aumentan la expresión de enzimas implicadas en la esteroidogénesis a través de la inducción de la ACTH, un efecto mediado por una cascada de señales en la que interviene el AMP cíclico. Asimismo, el sistema IGF influencia la expresión de enzimas involucradas en la síntesis de catecolaminas en el SNC, que a su vez están relacionadas con la regulación de la síntesis de gonadotropinas. Además, el IGF-I aumenta la expresión de la tirosina hidroxilasa, dopamina β-hidroxilasa y fenil-etanolamina *N*-metil transferasa en las células cromafines de la médula suprarrenal por una vía de señalización en la que participa la proteína kinasa A.

4.4.4. *Receptores y mecanismo de acción*

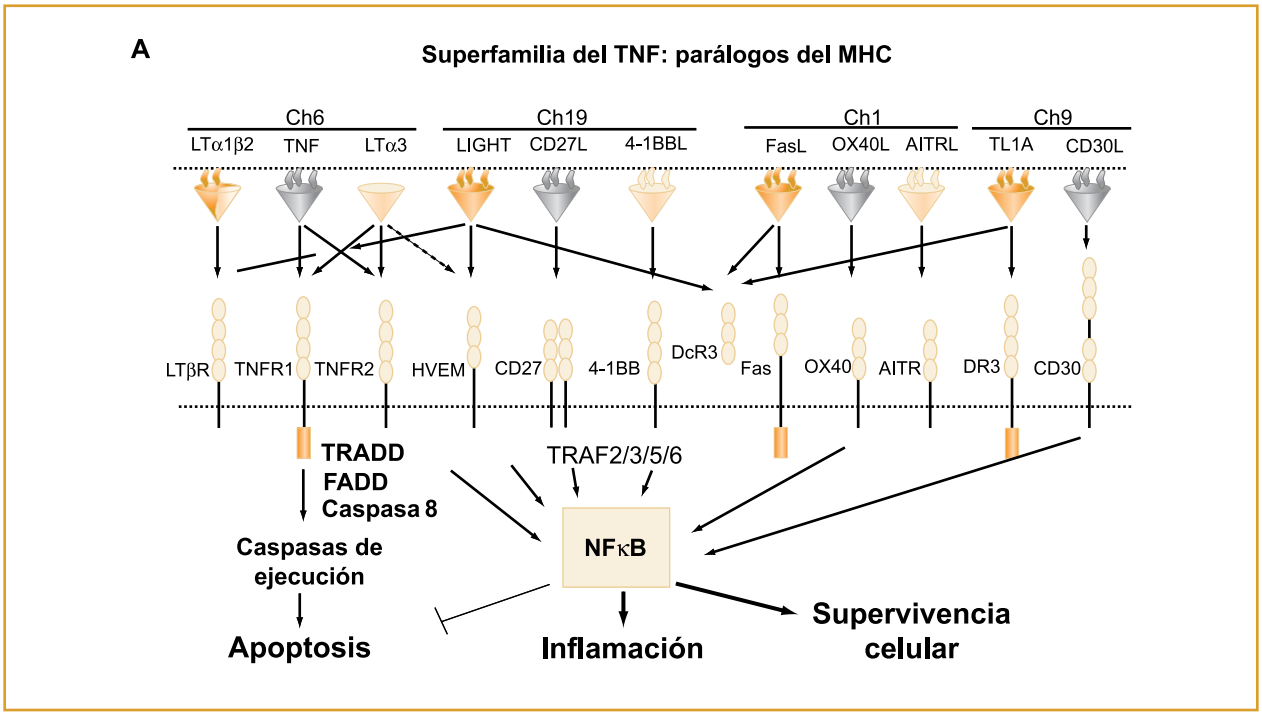
Los IGF son capaces de acoplarse a los receptores de la insulina presentes en los adipocitos y en los miocitos, o a receptores específicos. Los efectos metabólicos de tipo insulínico se deben a la fijación sobre el receptor de insulina, mientras que sus efectos mitogénicos están ligados a la fijación sobre los receptores específicos.

Se han purificado dos tipos de receptores específicos de IGF-I y de IGF-II. El IGFR-I es una glicoproteína formada por dos subunidades α y otras dos β dispuestas en una posición muy parecida a la que se aprecia en el receptor de la insulina. Las subunidades β se autofosforilan después de la fijación del ligando, al igual que ocurre con el receptor de insulina (*ver Capítulo 1.5*). El IGF-IIR es netamente diferente, ya que está formado por una única glicoproteína de elevado peso molecular.

Como reguladores de la secreción de GnRH y de gonadotropinas, los IGF, tanto los sintetizados en el hipotálamo y en la hipófisis como los derivados de la circulación sistémica, interaccionan con los receptores específicos de las células gliales. En estas células, la interacción del IGF-I con el IGFR-I activa una vía de señalización de mitógenos del tipo ras/raf, mediada por una cascada de kinasas activadas por mitógenos (MAPK) (*ver Capítulo 1.5*), que finaliza con el aumento de expresión de GnRH. El IGF-I también actúa en la hipófisis anterior estimulando la secreción de gonadotropina, lactógeno placentario (LH) y hormona estimuladora de los folículos (FSH).

4.5. Superfamilia de citokinas relacionadas con el factor de necrosis tumoral (TNF: *Tumour Necrosis Factor*)

El TNF y la linfotoxina α (LT-α), caracterizados originalmente por su capacidad de inducir caquexia y apoptosis en las células tumorales, son los miem-



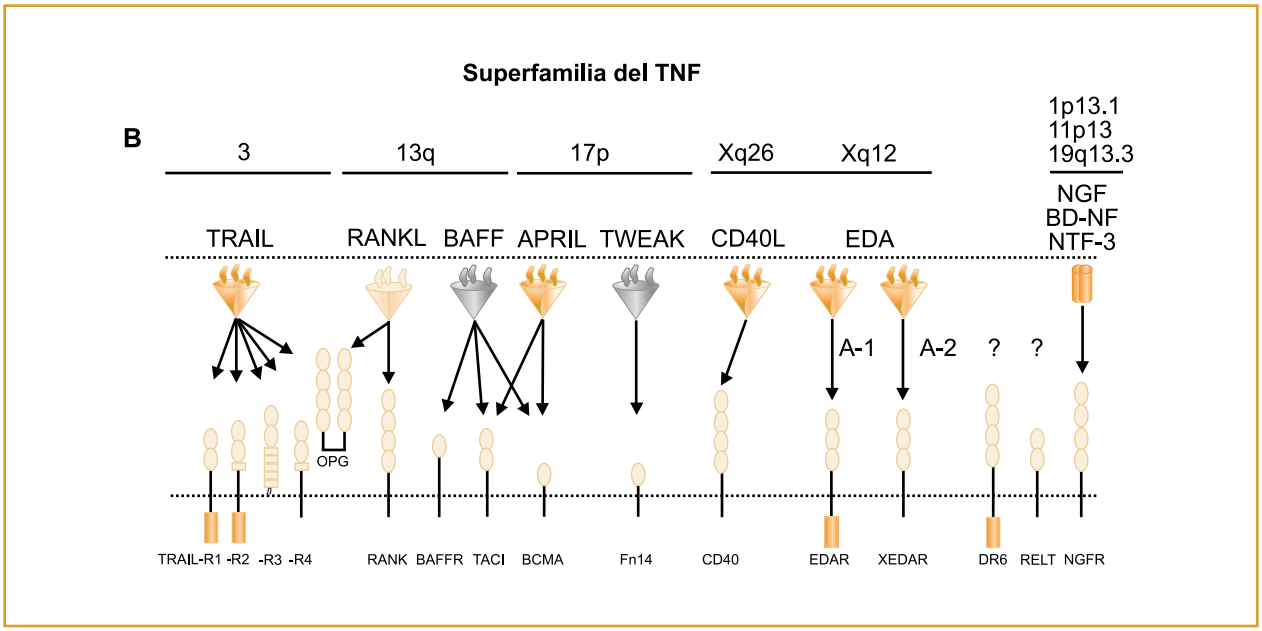


Figura 25. *Paneles A y B. Ligandos y receptores de la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF).*

bros de una superfamilia de citokinas que desempeñan un papel fundamental como mediadores de un amplio abanico de actividades biológicas. Estas actividades se relacionan con la protección del huésped frente a patógenos mediante la inducción de inflamación. Por otra parte, los miembros de la familia del TNF ejercen efectos deletéreos en la sepsis, el desarrollo de tumores, la caquexia y las enfermedades autoinmunes. Además, algunos de ellos están implicados en el desarrollo de órganos linfoides secundarios y en el mantenimiento de la arquitectura de los tejidos linfáticos. De forma general se

puede decir que la superfamilia de citokinas TNF activa diversas vías de señalización celular para la supervivencia, la muerte y la diferenciación que orquestan el desarrollo, la organización y la homeostasis de los tejidos linfoide, mamario y nervioso, así como de los tejidos ectodérmicos.

4.5.1. Estructura

Los miembros de la familia TNF comprenden ligandos unidos a la membrana o ligandos solubles segregados por diversos tipos celulares que interaccionan con uno o más receptores específicos (TNFR). Cada par ligando-receptor se considera un sistema y, actualmente, se conocen más de 40 sistemas diferentes. Aunque existe una nomenclatura racional para los genes de ligandos y receptores, el uso de nombres comunes y de acrónimos hace muy difícil su estudio generalizado. La **Figura 25 (paneles A y B)** muestra los principales ligandos y receptores de la familia TNF, así como la localización cromosómica de los genes involucrados.

Los ligandos relacionados con el TNF son proteínas transmembrana de tipo II, es decir, proteínas con el N-terminal en el lado intracelular, y un "dominio homólogo de TNF" en el extremo C-terminal. Este se encuentra plegado en forma estratificada, con hojas plegadas en sentido antiparalelo que se ensamblan formando trímeros, de manera que cada ligando presenta tres sitios de unión al receptor. El dominio homólogo de TNF se encuentra en otras proteínas, como la fracción C1q del complemento y la adiponectina, una hormona producida por los adipocitos y que es reguladora de la acción insulínica, pero se desconoce si estas proteínas se unen a receptores del tipo TNFR.

La estructura cristalina del TNF y de la LT-α indica que estas citokinas son activas cuando están en forma de trímeros, y se asume que la mayoría de los miembros también tienen estructura trimérica. Actualmente se reconocen varias familias de factores dentro del árbol de la superfamilia TNF. La secuencia y la homología estructural del ectodominio de los ligandos y de los receptores definen a las familias. Un motivo estructural clave es el dominio rico en cisteína de los receptores, formado por tres puentes disulfuro que rodean un motivo central formado por otras tres cisteínas alternantes con otros aminoácidos, lo cual da lugar a una estructura elongada. El número de estos motivos varía desde uno a seis en los diferentes receptores.

4.5.2. Efectos biológicos

La inducción de TNF por estímulos patogénicos induce una cascada de citokinas proinflamatorias, quimiokinas, factores de crecimiento y adhesinas endoteliales que reclutan y activan una gran variedad de células en el lugar de infección o en el tejido dañado (*ver Capítulo 1.35*). La cascada inflamatoria inducida por el TNF y sus receptores es modulada por retroinhibición y expresión de los receptores, por el procesado de los ligandos en la membrana y por la ruptura de los receptores.

El TNF tiene efectos paradójicos, pues es esencial para la supervivencia del huésped frente a las infecciones por bacterias intracelulares, un efecto mediado por el TNFR1, y, sin embargo, provoca inflamación, trombosis capilar e infarto cerebral en la enfermedad de Chagas, una enfermedad producida por el parásito intracelular *Trypanosoma cruzi*, efecto mediado por el TNFR2. Asimismo, dosis elevadas de TNF administradas localmente destruyen selectivamente los vasos sanguíneos de los tumores y muestran una potente acción anticancerosa. Sin embargo, la producción crónica de TNF actúa como un promotor endógeno de tumores. Estos efectos son análogos a los que ocurren en los procesos inflamatorios. Así, el TNF provoca la muerte de las células alteradas en el tejido dañado donde tiene lugar la inflamación, pero también contribuye al crecimiento de los fibroblastos; puede destruir los vasos sanguíneos dañados, pero también contribuye a la angiogénesis.

El tamaño de la superfamilia TNF parece haber crecido por duplicación génica, ya que muchos de los genes de ligandos y de receptores están agrupados en *loci* discretos, lo que refleja su evolución y la conservación de sus funciones. Los TNF sólo se encuentran en los vertebrados y, dado el papel preponderante de la superfamilia TNF en la regulación de la inmunidad, la expansión de los TNF parece haber ocurrido de manera paralela a la evolución de la inmunidad adaptativa. Un ejemplo de ello es la duplicación y translocación de los genes de los TNFR agrupados en la región cromosómica 12p13 (TNFR1, LTβR y CD27) o en la región

1p36 (TNFR2, HVEM, OX-40, CD-30, AITR, 4-1BB y DR3). Estos receptores se unen a ligandos de la superfamilia TNF, cuyos genes se encuentran en la región del complejo principal de histocompatibilidad del cromosoma 6 (TNF, LTβ y LTα) y en las regiones paranálogas de dicho complejo de los cromosomas 1, 9 y 19 **(Figura 25, panel A)**. Las interacciones de estos ligandos y de dichos receptores regulan el "estilo de vida" de las células T. Por otra parte, los sistemas OX-40 y 4-IBB actúan como coestimuladores en la inmunobiología de los linfocitos T. Las LT desempeñan un papel fundamental en la organogénesis de los tejidos linfoides, y el sistema LIGHT interviene en la inmunidad adaptativa y en la inmunopatogénesis. Por el contrario, las citokinas de tipo TNF que modulan la acción de las células B (CD40, BAFF, APRIL y TWEAK) están en los cromosomas 13, 17 y X **(Figura 25, panel B)**. El papel de los sistemas TNF en el desarrollo de la inmunidad adaptativa se expone en el Capítulo 1.35.

La homeostasis del sistema inmune está controlada en parte por un equilibrio entre la supervivencia y la muerte celular. La complejidad de la superfamilia TNF es aún mayor si se tiene en cuenta que una parte importante de dicha homeostasis está regulada por sistemas ligando-receptores de muerte, como el Fas-L/FAS-CD95. Este sistema no sólo regula la apoptosis de las células inmunes, sino que su actuación se extiende a la angiogénesis y a la extensión de los tumores. El sistema TRAIL de receptores de muerte celular está constituido por cuatro receptores (R1 a R4) diferentes con un único ligando, cuya función es actuar como un agente de defensa antiviral mediado por la producción de interferón en las células ***N**atural **K**iller* (NK), las células dendríticas y las células T de tipo citotóxico (*ver Capítulo 1.35*).

Otras familias del TNF, como el sistema EDA1-EDAR, intervienen en el desarrollo del ectodermo; el sistema TWEAK-Fn14 participa en la angiogénesis y el sistema TRANCE es un factor crítico en la morfogénesis ósea **(Figura 25, panel B)**.

Por otra parte, el TNF-α expresado en los adipocitos de los humanos está implicado en la inducción de la resistencia a la insulina en la obesidad y en la diabetes de tipo 2. Este factor induce la lipólisis, inhibe la señalización de la insulina y altera el patrón de expresión de genes importantes en los adipocitos a través de la activación del NF-κB, así como de la hormona adiponectina.

4.5.3. Receptores y mecanismo de acción

Hasta ahora se han identificado 29 receptores de la familia TNF en los humanos. Basándose en sus secuencias citoplasmáticas y en las vías de señalización, estos receptores se han clasificado en tres grupos:

a) El primer grupo incluye los receptores Fas, TNF-R1, DR3, TRAIL-R1, TRAIL-R2 y DR6, los cuales poseen un dominio de muerte celular (DD: ***D**eath **D**omain*) en la cola citoplasmática. La activación de estos dominios da lugar al reclutamiento de moléculas adaptadoras tales como FADD (***F**as-**A**ssociated **D**eath **D**omain*) y TRADD (***T**NF**R**-**A**ssociated **D**eath **D**omain*). Estas moléculas activan la cascada de las caspasas y la activación de la apoptosis (*ver Capítulo 1.32*).

b) El segundo grupo incluye los receptores TNF-R2, CD40, CD30, CD27, LTβR, Ox40, 4-IBB, BAFF-R, BCMA, TACI, RANK, p75NGFR, HVEM, TNFRSF18, TROY, EDAR, XEDAR, RELT y Fn14. Estos receptores contienen uno o más motivos de interacción con TRAF, denominados TIMs (***T**RAF-**I**nteracting **M**otif**s***) en sus colas citoplasmáticas. La activación de los receptores correspondientes conduce a la captación de moléculas adaptadoras para los dominios TRAF y a la activación de varias vías de transducción de señales tales como las del factor nuclear κB (NF-κB), la kinasa N-terminal Jun (JNK), la p38, la kinasa relacionada con las señales extracelulares (ERK) y la fosfoinosítido-3-kinasa (PI3K) (*ver Capítulo 1.5*).

c) El tercer grupo de receptores incluye a los miembros TRAIL-R3, TRAIL-R4, decoy-R3 (o receptor señuelo R3), y osteoprotegerina. Aunque los miembros de este grupo de receptores no dan lugar a señales intracelulares, sí pueden competir con los otros dos grupos de receptores por la unión a ligandos comunes. Por tanto, estos "receptores señuelo" funcionan como una trampa impidiendo la activación de las vías de transducción de señales de otros receptores de TNF.

4.6. Interleukinas

Las interleukinas (IL) están constituidas por una serie de familias de linfokinas y monokinas, producidas respectivamente por los linfocitos y los mo-

nocitos, implicadas tanto en la inmunidad inespecífica como en la inmunidad adaptativa.

Existen varias familias de interleukinas entre las que destacan las familias IL-1, IL-2, IL-4, IL-6 e IL-10. Además, en las reacciones de citotoxicidad y de defensa frente a la infección por virus intervienen otras citokinas denominadas interferones (IFN). Asimismo, existen dos clases principales (I y II) de receptores de interleukinas e interferones con varias subfamilias. La clase I incluye las familias de receptores de la IL-3/IL-5/GM-CSF, y la de IL-2 y la de IL-6 y se caracterizan por tener alguna subunidad con un receptor "señuelo". La clase II incluye las subfamilias de INF, IL-10, IL-22, IL-19, IL-20 e IL-24, e IL-26.

El papel específico de las interleukinas en la activación, proliferación y diferenciación de los leucocitos, así como la función de los interferones en la defensa frente a la infección viral, se abordan en el Capítulo 1.35. No obstante, en el presente Capítulo se consideran de forma resumida algunos aspectos estructurales y funcionales de las principales citokinas producidas por los linfocitos, así como de algunas interleukinas relacionadas con los procesos inflamatorios y la inmunidad inespecífica.

4.6.1. Interleukina 1 (IL-1)

La IL-1 favorece la activación de los linfocitos T cooperadores (Th, por su designación en inglés, ***T-h****elper*) por parte de las células presentadoras de antígenos (APC: ***A****ntigen-****P****resenting* ***C****ells*). Al inducir la expresión de varias moléculas de adhesión, receptores del IFN-γ y determinadas proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II, la IL-1, al igual que hace el TNF-α, aumenta la eficacia con la que una APC puede unir células Th. Además, la IL-1, y también el TNF-α, actúan de manera paracrina sobre las células Th, dando lugar a a la expresión de IL-2 y de sus receptores de superficie, así como de receptores de IFN-γ, y, por tanto, condicionando la expansión clonal de los linfocitos. Así, la IL-1, actuando de forma sinérgica con otras IL, tales como la IL-6, y el TNF-α influencian la repuesta inmune mediada tanto por células como por anticuerpos.

La IL-1 se produce, además de por todos los linfocitos y macrófagos, por las células "asesinas naturales" (NK: ***N****atural* ***K****iller*), los neutrófilos, las células dendríticas, los astrocitos, los queratinocitos, las células endoteliales, los fibroblastos y las células musculares lisas o leiomiocitos. En los seres humanos se expresan dos tipos, denominados IL-1α e IL-1β, codificados por genes diferentes, de escasa homología en la secuencia de aminoácidos, pero de propiedades biológicas muy similares. Diferentes tipos celulares expresan usualmente tipos de IL-1 diferentes; por ejemplo, los queratinocitos expresan principalmente IL-1α y los macrófagos IL-1β. Otros tipos celulares expresan una proteína antagonista del receptor de la IL-1, denominada IL-1RA, que actúa como inhibidor competitivo tanto de IL-1α como de IL-1β.

Las IL-1 se sintetizan como propéptidos que maduran por la acción de proteasas específicas, como la caspasa 1, lo que permite su salida al exterior de la célula. La expresión y secreción de IL-1 aumenta en los macrófagos en presencia de otras citokinas como TNF, factor estimulante de colonias (CSF) o IL-2, liberadas por las células T activadas. Asimismo, las prostaglandinas también regulan la expresión de la IL-1, aumentando por la acción de los leucotrienos y disminuyendo en presencia de PGE_2.

Las IL-1 se unen a receptores de alta afinidad de dos tipos. El receptor de tipo I (IL-1RI) transmite señales al interior de la célula, mientras que el de tipo II no, de manera que este último actúa como un inhibidor de la acción, fundamentalmente de la IL-1β, por la que presenta una mayor afinidad. El IL-1RII se comporta, por tanto, como un receptor "trampa" o "señuelo", especialmente en lugares con inflamación. Los receptores de IL-1 se expresan de manera constitutiva en las células respondedoras, como los linfocitos Th, pero su grado de expresión se modula por otras citokinas y factores. Por ejemplo, la expresión del receptor IL-1RII se induce por IL-3, IL-4 y glucocorticoides, y así se inhibe la respuesta inmune mediada por IL-1β. El mecanismo de acción de las IL-1 sigue siendo controvertido, pero se conoce que, al menos los procesos iniciales, después de la unión de los ligandos a los receptores, están mediados por fosforilación de residuos de serina y treonina de varias proteínas citoplasmáticas y algunas de ellas activan al factor de transcripción NFκB, un importante mediador celular de los procesos inflamatorios.

4.6.2. *Interleukina 2 (IL-2)*

La IL-2 es una citokina segregada por los linfocitos T activados que actúa en forma autocrina y paracrina contribuyendo a la proliferación clonal de las células T. Es una de las citokinas más importantes en la regulación de la inmunidad ya que, además de intervenir en la proliferación de los linfocitos T, desempeña un papel fundamental en las propiedades funcionales de los macrófagos, las células B y las células NK.

La secuencia y estructura de la IL-2 es muy particular y está constituida por dos hélices α unidas por un puente disulfuro que se sitúan alrededor de una parte central muy hidrofóbica. El gen que codifica para la IL-2 se encuentra en el cromosoma 4 y es único.

La expresión de IL-2 ocurre cuando las células T se exponen a diversos agentes mitogénicos y la producción tiene lugar mayoritariamente en las células Th, siendo su vida media muy corta. Simultáneamente se expresa un receptor de alta afinidad denominado IL-2R, el cual está constituido por asociaciones diméricas o triméricas de tres cadenas α, β y γ_c. Estas dos últimas cadenas son miembros de la superfamilia de receptores de la hematopoyetina y son las responsables de la transducción de señales al interior de la célula, fundamentalmente en forma de heterodímeros y heterotrímeros β/γ_c. Varias regiones citoplasmáticas de la cadena β están implicadas en la señalización celular mediada por IL-2 que da lugar a la activación de genes involucrados en la proliferación celular, como *c-myc*, *fos* y *jun* (*ver Capítulo 1.5*). La cadena γ_c también forma parte de otros receptores de citokinas como IL-4R, IL-7R, IL-9R e IL-13R, y las mutaciones en el gen correspondiente dan lugar a una enfermedad mortal denominada inmunodeficiencia grave combinada ligada al cromosoma X.

La interacción de la IL-2 con su receptor provoca la producción por las células T de otras citokinas, como IFN-γ, TGF-β; de factores de crecimiento de las células B, como IL-4 e IL-6, y de factores de crecimiento hematopoyético, como IL-3, IL-5 y factor estimulante de las colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF).

Las células NK expresan IL-2R de manera constitutiva y, por consiguiente, responden a IL-2 incluso en situaciones de reposo, aunque sólo expresan las cadenas α y γ_c, por lo que sólo proliferan en presencia de elevadas concentraciones de IL-2. No obstante, después de la estimulación comienzan a expresar la cadena β y entonces aumenta su actividad citolítica, segregando una amplia variedad de citokinas. La IL-2 también activa las células asesinas naturales activadas por linfokinas (LAK: ***L****ymphokine-****A****ctivated* ***K****iller Cells*).

4.6.3. *Interleukina 6 (IL-6) y citokinas relacionadas*

La IL-6 es una proteína glicosilada en grado variable que se produce a partir de un solo gen situado en el cromosoma 7. La síntesis tiene lugar en muchos tipos celulares que incluyen linfocitos T y B activados, monocitos, células endoteliales, células epiteliales y fibroblastos, y sus principales actividades biológicas son la inducción de la síntesis de proteínas de respuesta de fase aguda en el hígado y en el centro hipotalámico regulador de la fiebre, la estimulación de la proliferación, diferenciación y producción de anticuerpos por las células B y la estimulación de la hematopoyesis y de la trombopoyesis. En la inducción de la síntesis de IL-6 cooperan de forma activa la IL-1, el TNF-α, el PDGF y diversos activadores de los linfocitos T y B y de los macrófagos.

La IL-6 se une a receptores de alta afinidad constituidos por dos cadenas α y β. La cadena α no tiene dominio citoplasmático y presenta escasa afinidad por la IL-6, pero una vez unida a ella, el complejo se une con elevada afinidad a la cadena β que es la transductora de señales al interior de la célula. La cadena β es compartida por los receptores de otras citokinas que no comparten estructura con la IL-6, dando lugar a una superfamilia de receptores diferenciados por la subunidad α. Entre las citokinas relacionadas funcionalmente con la IL-6, están la IL-11, el factor inhibidor de los leucocitos (LIF), la oncostatina M (OSM), el factor neurotrófico ciliar (CNTF) y la cardiotropina 1 (CT-1).

La función inmunitaria principal de la IL-6 es potenciar los efectos de otras citokinas, especialmente IL-1 y TNF. Así, la IL-6 actúa como coestimuladora de los efectos mitogénicos de IL-1 y TNF, fundamentalmente por su acción positiva sobre la síntesis de IL-2R. Asimismo, la IL-6 potencia la caquexia inducida por TNF e IL-1 y estimula la biosíntesis de los glucocorticoides en situaciones tanto

de estrés metabólico como de estrés emocional. No obstante, al contrario que otras citokinas, no estimula la síntesis de otros factores de crecimiento en las células del sistema inmune.

Su acción como inductora de la síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado es compartida con otras citokinas como IL-1 y TNF, y con otras citokinas relacionadas funcionalmente como IL-11, LIF, OSM y CT-1. Por otra parte, la acción estimuladora de la proliferación y diferenciación de las células B es compartida con la IL-11. Asimismo, estas dos citokinas, junto con el LIF, son estimuladoras de la hematopoyesis. Además, el LIF tiene un papel fundamental en la implantación del blastocisto en el útero.

4.6.4. Otras interleukinas

La **IL-4** y la **IL-13** se producen por las células T y están implicadas en la proliferación y diferenciación de células B activadas. Además, son responsables de cambios en la expresión de la cadena pesada de las inmunoglobulinas, dando lugar a la producción de IgE, por lo que ambas citokinas desempeñan una función fundamental en el desarrollo de la alergia. También, ambas citokinas promueven la diferenciación de células Th2 que controlan la proliferación de los eosinófilos, lo que confirma el papel clave en dicho grupo de enfermedades. Asimismo, la principal función de la **IL-5** en los humanos es estimular la producción de los eosinófilos y aumentar la actividad de los basófilos (*ver Capítulo 1.35*).

La **IL-7**, segregada por las células del timo, bazo y médula ósea, tiene un papel fundamental como factor de crecimiento para los precursores de las células T y B inmaduras. Además, la IL-7 aumenta la función de los linfocitos maduros activados, particularmente la actividad citotóxica.

La **IL-10** es una citokina producida por las células Th2 que inhibe la producción de otras citokinas como IL-2 e IFN-γ, inclinando el equilibrio hacia una respuesta de tipo humoral o de tipo Th1. Asimismo, la IL-10 inhibe la producción de citokinas por las células NK y los macrófagos, suprimiendo en estos últimos la producción de radicales libres de oxígeno, óxido nítrico y proteínas de adhesión. Otras citokinas relacionadas con la IL-10 son la IL-19, la IL-20, la IL-22, la IL-24 y la IL-26. Estructuralmente, son muy diferentes pero todas ellas interaccionan, como la IL-10, con receptores de citokinas de la clase II. Alguna de ellas, como la IL-24, presenta una fuerte acción inductora de apoptosis y supresora del crecimiento tumoral.

La **IL-12**, producida fundamentalmente por las células B y los macrófagos, promueve la proliferación de los linfocitos T y de las células NK activadas, aumenta la actividad citolítica de las células NK y LAK y es el inductor más potente de la producción de IFN-γ por las células T y NK. Además, induce selectivamente la diferenciación de células Th0 a Th1, suprimiendo las funciones dependientes de las células Th2 tales como la producción de IL-4 e IL-10 y la síntesis de IgE. Por otra parte, la IL-12 participa activamente en el desarrollo de la tolerancia oral a los antígenos y actúa sinérgicamente con la IL-2 en la promoción de la citotoxicidad de las células T, por lo que desempeña una función importante como inmunopotenciador antitumoral.

La **IL-14**, sintetizada únicamente por las células dendríticas y las células T, participa en respuestas inmunes humorales secundarias, activando la proliferación de células B, pero inhibiendo la secreción de anticuerpos.

La **IL-15** funciona como una señal de células no linfoides para la generación de respuestas inmunitarias dependientes de la célula T, compartiendo con la IL-2 muchas actividades tales como la capacidad para inducir proliferación de células T activadas, células T citotóxicas y células LAK. A diferencia de la IL-2, la IL-15 se expresa en muchos tejidos no linfoides como la placenta, el músculo esquelético, el corazón, el riñón, el pulmón, el hígado y la médula ósea. Asimismo, se expresa por células epiteliales y monocitos, pero nunca por células T.

La **IL-16** actúa como una quimiokina para los linfocitos T estimulados; de hecho, se la denominó factor quimioatrayente de linfocitos (LCF), además de eosinófilos y monocitos.

La **IL-17** es una citokina proinflamatoria segregada por las células T activadas. El reciente descubrimiento de una serie de moléculas relacionadas ha hecho que se considere una familia IL-17, que va desde la IL-17A hasta la IL-17F. Sus acciones tienen lugar en tejidos muy diversos tales como el cartílago, el hueso, el cerebro, el tejido hematopoyético el riñón, el pulmón, la piel y el intestino.

Los **interferones** se dividen en dos subfamilias: interferones (IFN) tipo I, que incluyen IFN-α,

IFN-β e IFN-ω, así como los recientemente descubiertos IFN-κ e IFN-ε, cuya función es neutralizar la infección por virus, e interferón tipo II o IFN-γ, cuya función está relacionada con el desarrollo de la respuesta inmune. Para el estudio detallado de la función de los interferones, ver Capítulo 1.35.

4.7. Quimiokinas

Las quimiokinas son citokinas que desarrollan una actividad quimioatrayente para leucocitos y fibroblastos. Se producen fundamentalmente por las células endoteliales, los macrófagos y los leucocitos polimorfonucleares, y su función principal es atraer células específicas al área de lesión o de inflamación tisular.

Las quimiokinas tienen homología estructural y comparten secuencias de aminoácidos que oscilan entre el 20 y el 50%. Casi todas las quimiokinas tienen dos enlaces disulfuro formados por dos pares de cisteínas conservadas, y se pueden clasificar en dos subfamilias en función de las dos cisteínas más cercanas al grupo amino terminal. En las **quimiokinas C-X-C**, también denominadas α, las cisteínas están separadas por un aminoácido mientras que en las **quimiokinas C-C** o β, las cisteínas son adyacentes. Los genes que codifican las quimiokinas C-X-C están agrupados en el cromosoma 4 y los de las C-C en el cromosoma 17. Una nueva quimiokina, denominada linfotactina, sólo tiene una cisteína y es la única representante de las **quimiokinas C**.

Las quimiokinas se unen a receptores transmembranales y son activas a concentraciones del orden de picomoles a fentomoles. Hasta la fecha se han descubierto nueve tipos de receptores, todos ellos pertenecientes a la superfamilia de receptores de la rodopsina, que abarca los receptores β-adrenérgicos, el receptor de la fracción 5 del complemento, los receptores odoríferos, etc.

Los inductores de la producción de quimiokinas son antígenos, agentes mitogénicos, inductores de la agregación plaquetaria y varias citokinas proinflamatorias como IL-1 y TNF, además de PDGF, IL-2 e IFN-γ.

Entre las quimiokinas más frecuentes, se encuentran la IL-8, los oligopéptidos relacionados con el crecimiento GRO-α y GRO-β, las proteínas quimioatrayentes de los monocitos MCP-1, MCP-2 y MCP-3 y las proteínas inflamatorias de los macrófagos MIP-α y MIP-β.

4.8. Otras citokinas

4.8.1. Citokinas hematopoyéticas

La hematopoyesis se controla por al menos 30 citokinas conocidas. La mayor parte de ellas tienen funciones superpuestas, aunque algunas tienen funciones singulares. Los factores estimulantes de colonias hematopoyéticas (CSF: ***C****olony* ***S****timulating* ***F****actor*) son citokinas que estimulan células madre pluripotentes o sus descendientes comprometidas, que se encuentran principalmente en la médula ósea de los adultos, para que produzcan grandes cantidades de eritrocitos, plaquetas, neutrófilos, monocitos, eosinófilos y basófilos. Cada CSF actúa sobre un tipo de células madre y, de acuerdo con ello, recibe un nombre específico. Así, el G-CSF estimula la producción de granulocitos (neutrófilos) y el M-CSF la de monocitos. Estas citokinas no actúan solas, sino en combinación con otras citokinas como IL-1, IL-6, IL-11, etc.

La **IL-3**, conocida también como "CSF multipotencial", estimula las células madre mieloeritroides para que generen descendientes mieloides maduros megacariocíticos y eritroides. La **eritropoyetina** (EPO) y la **trombopoyetina** (TPO) son dos citokinas que intervienen en la expansión de células madre hematopoyéticas y en el desarrollo de los megacariocitos. Ambas citokinas se comportan a todos los efectos como factores de crecimiento que comparten una elevada homología estructural y de funcionamiento. Como la GH, y otros miembros de la familia de factores de crecimiento hemáticos, la EPO y la TPO tienen un dominio N-terminal con 4 hélices antiparalelas que interacciona con el receptor. Asimismo, la estructura de sus receptores y el mecanismo de acción son muy similares a los de la GH.

Otra citokina involucrada en la hematopoyesis durante la vida fetal es la **oncostatina M** (OSM). Esta citokina es responsable de la producción de células hematopoyéticas a partir de células madre hematopoyéticas maduras de la región aorta/gónadas/mesonefros, las cuales migran al hígado fetal. La OSM estimula no sólo el desarrollo de las células hematopoyéticas sino el de las célu-

las endoteliales a partir de los hemangioblastos. En el adulto, la OSM se produce por las propias células hematopoyéticas e induce la diferenciación de las células hepáticas. En realidad, como se ha comentado anteriormente, la OSM es una citokina más de la familia de la IL-6 con funciones específicas en la hematopoyesis, especialmente durante la vida fetal.

4.8.2. Familia de factores de crecimiento de los fibroblastos (FGF: **F**ibroblast **G**rowth **F**actors*)*

La familia de los FGF comprende un grupo creciente de polipéptidos relacionados estructuralmente que tienen actividad mitogénica; actualmente se conocen 16 miembros. Junto al FGF ácido (FGF-1) y el FGF básico (FGF-2), los dos descubiertos inicialmente, se encuentran los productos de los protooncogenes *int-2* (FGF-3), *hst* (FGF-4), *FGF-5* (FGF-5) y *FGF-6* (FGF-6), el factor de crecimiento de los queratinocitos (KGF o FGF-7), el factor de crecimiento inducido por andrógenos (AIGF o FGF-8), el factor activador de la glía (GAF o FGF-9), el factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF-10) y otros factores homólogos hasta un total de 16.

La familia de los FGF se encuentra distribuida ubicuamente en todos los tejidos, y sus miembros están involucrados en el desarrollo y en la homeostasis tisular en los adultos. Los FGF también promueven la progresión del cáncer, no sólo por sus efectos mitogénicos y angiogénicos, sino por su participación en el desarrollo de las metástasis.

Su acción en las células está mediada por receptores tirosina kinasa de alta afinidad (FGFR) y por una clase de receptores de baja afinidad constituidos por proteoglicanos de heparán sulfato (HSPG: ***H****eparan* ***S****ulphate* ***P****roteo****G****licans*). Se han descrito cuatro FGFR.

Cuando el FGF se une a la superficie celular induce la dimerización de los FGFR, la activación subsiguiente de los dominios de tirosina kinasa y la autofosforilación de los dominios citoplasmáticos de dichos receptores. Las tirosinas fosforiladas son reconocidas por transductores de señales que contienen dominios SH2, lo que provoca la unión de las enzimas diana como la fosfolipasa C. La formación de complejos con otras proteínas como Grb2 y Sos da lugar al reclutamiento de la proteína del oncogén *Ras* en la membrana plasmática (*ver Capítulo 1.5*).

La activación de los FGFR da lugar a una serie de respuestas celulares que incluyen la proliferación, la migración y la diferenciación. Los FGF inducen más de un efecto biológico sobre la misma célula. Así, los FGF actúan sobre las células endoteliales promoviendo simultáneamente su proliferación y migración, lo que contribuye a la angiogénesis. Otros ejemplos de la intervención de los FGF en la migración celular son la migración del mesodermo del embrión y la curación de las heridas.

El KGF parece actuar específicamente sobre las células epiteliales estimulando su proliferación, migración y diferenciación. Debido a estas propiedades, se estima que este factor desempeña un papel crucial en los procesos de reparación tisular y su potencial terapéutico es enorme.

4.8.3. Familia de factores de crecimiento relacionados con la angiogénesis: factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF: **V**ascular **E**ndothelial **G**rowth **F**actor*), angiopoyetinas y efrinas*

La angiogénesis es un proceso multifactorial que da lugar a la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de la vasculatura preexistente. En este proceso, intervienen numerosos factores que provocan varias señales moleculares, las cuales estimulan la proliferación, migración y ensamblaje de las células endoteliales, así como el reclutamiento de células perivasculares y el remodelado de la matriz extracelular.

Los mediadores clave en la angiogénesis son la familia de receptores de tirosina kinasa de las células endoteliales denominados RTK (***R****eceptor* ***T****yrosine* ***K****inase*). Éstos incluyen las familias de receptores de VEGF, de angiopoyetinas, denominados Tic-2, y de las efrinas (Eph), denominados Eph RTK. Como se indicó con anterioridad, el VEGF está emparentado con los PDGF y comparte con ellos muchos efectos biológicos.

La familia de Eph RTK es la más grande conocida hasta la fecha, ya que comprende al menos 14 receptores diferentes, divididos en dos subclases, A y B, y 8 ligandos. Los receptores de las Eph represen-

tan una familia especial porque se unen a ligandos que no son solubles sino que están en la superficie de las células. Así, las Eph son proteínas globulares ancladas a la membrana celular mediante glicosil-fosfatidil inositol o un dominio transmembrana, las cuales interaccionan con los receptores A y B, respectivamente. En el caso de las Eph, su unión a los receptores no provoca la proliferación celular sino la adhesión a matrices extracelulares y la migración de varios tipos celulares, por lo que pueden ser consideradas como un tipo particular de quimiokinas.

La expresión de Eph está regulada por la acción de otras citokinas como el TNF-α, la IL-1 y el VEGF, o por antígenos microbianos del tipo de los lipopolisacáridos. Por ejemplo, el VEGF induce la expresión de la EphA1, y el bloqueo del receptor de ésta inhibe la supervivencia de las células endoteliales, y la migración y la angiogénesis de la córnea *in vivo*, lo que indica que la activación del receptor EphA es necesaria para la angiogénesis mediada por VEGF.

4.8.4. Neurotrofinas

Las neurotrofinas son factores de crecimiento solubles pertenecientes a una familia caracterizada por su papel en la proliferación, supervivencia y diferenciación de diferentes poblaciones celulares del sistema nervioso de los mamíferos. En esta familia se incluyen el factor de crecimiento nervioso (NGF: ***N****erve* ***G****rowth* ***F****actor*), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF: ***B****rain-****D****erived* ***N****eurotrophic* ***F****actor*), la neurotrofina-3 (NT-3) y la neurotrofina-4/5 (NT-4/5).

Entre las neurotrofinas, el NGF y el BFDF protegen a los oligodendrocitos de la muerte inducida por la citokina TNF y por daño de la médula espinal, respectivamente, mientras que la NT-3 promueve la supervivencia y la proliferación de los oligodendrocitos. Las neurotrofinas también actúan sobre las células de la microglía, inhibiendo los procesos inflamatorios. En condiciones normales, las neurotrofinas se producen por los tejidos inervados y por las propias neuronas. Sin embargo, cuando el SNC es dañado, las células gliales activadas y los linfocitos T y los macrófagos infiltrados desde el sistema circulatorio también producen neurotrofinas, por lo que se sospecha que podrían desempeñar un papel regulador en la reparación del SNC.

Además de intervenir en la supervivencia y desarrollo de varios tipos de neuronas en el SNC y en el sistema nervioso periférico, las neurotrofinas se expresan en una amplia variedad de tejidos y órganos, especialmente el sistema cardiovascular, el sistema reproductivo y el sistema inmune, aunque el conocimiento de sus funciones en estos sistemas es muy limitado.

Las acciones de las neurotrofinas están mediadas por dos tipos de receptores: uno de elevada afinidad, perteneciente a la familia Trk de receptores con actividad tirosina kinasa, y otro de baja afinidad, denominado p75 LANR (***L****ow-****A****ffinity* ***N****GF* ***R****eceptor*). El NGF se une solamente al receptor Trk A mientras que el BDNF y la NT-4/5 se unen exclusivamente al Trk B. La NT-3 se une preferentemente al receptor Trk C pero también lo hace a los Trk A y B, aunque con menor afinidad. Los Trk B y C son receptores truncados que no tienen actividad tirosina kinasa, y cuya función es prácticamente desconocida. Todas las neurotrofinas interaccionan con el receptor LANR, y parece que éste colabora en la internalización de los receptores de alta afinidad. El LANR no tiene actividad enzimática pero es capaz de activar vías de transducción de señales. Por ejemplo, en los fibroblastos el LANR es capaz de activar la producción de ceramida a partir de esfingomielina en las células de Schwann, después de su unión con el NGF, e inducir la translocación al núcleo del factor de transcripción NFκB.

Como ocurre con otros factores de crecimiento, las neurotrofinas se unen a sus receptores provocando su dimerización y la autofosforilación de varios residuos tirosina, lo cual inicia una cascada de señales mediada por la fosfolipasa C (*ver Capítulo 1.5*).

4.8.5. Neuropoyetinas

Las neuropoyetinas son una familia pleiotrópica de citokinas relacionadas con la IL-6 e involucradas en los procesos inflamatorios, entre las que se encuentran el factor ciliar neurotrófico (CNTF: ***C****iliary* ***N****euro****T****rophic* ***F****actor*) y el factor inhibidor de la leucemia (LIF: ***L****eukemia* ***I****nhibitory* ***F****actor*). Estos factores están siendo objeto de investigación extensiva a causa de su papel en el desarrollo de los

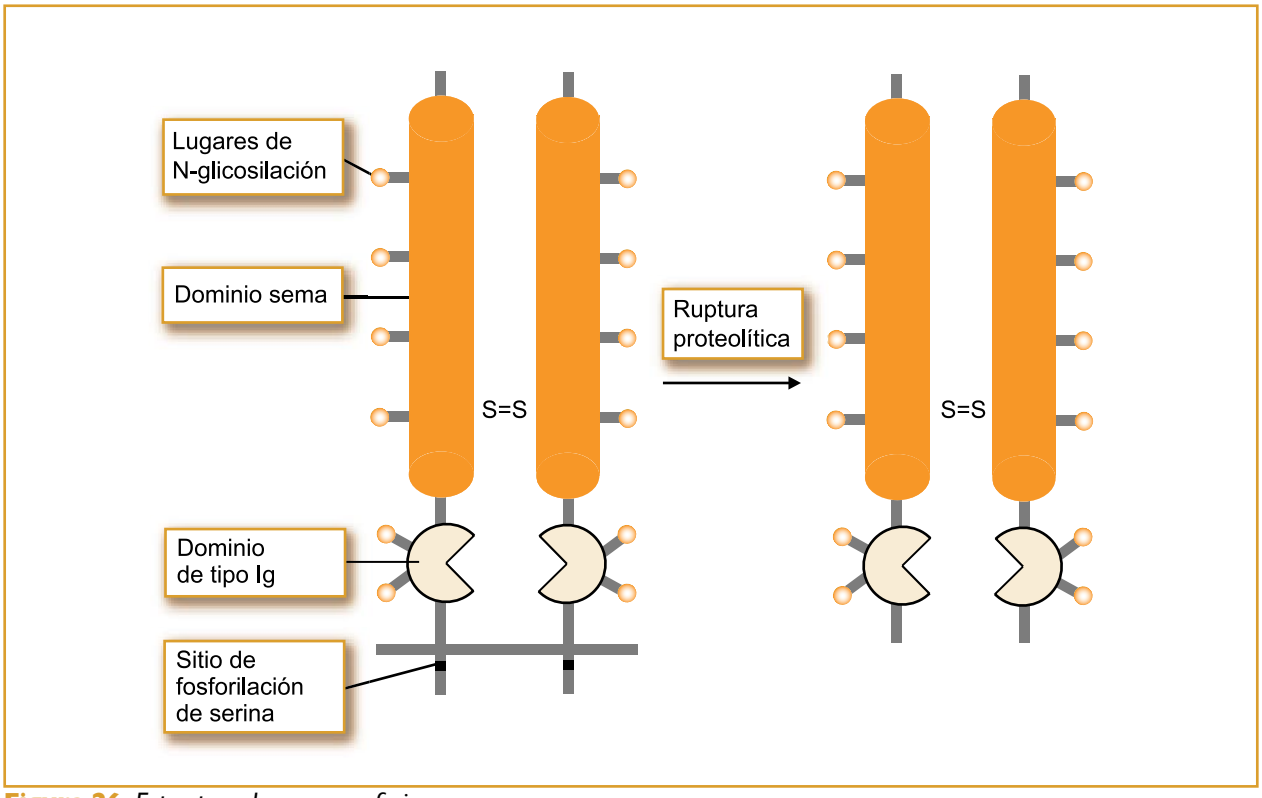


Figura 26. *Estructura de una semaforina.*

oligodendrocitos y en las enfermedades desmielinizantes.

El CNTF y el LIF actúan sobre las células progenitoras de los oligodendrocitos promoviendo su proliferación, supervivencia y maduración, y están implicados en la diferenciación de los astrocitos durante el desarrollo. Ambos factores protegen a los oligodendrocitos de la muerte inducida por citokinas proinflamatorias tales como el IFN-γ y el TNF-α.

El CNTF y el LIF interaccionan con un receptor complejo heterodimérico formado por la glicoproteína denominada gp130 y por el receptor LIF-β. Además, el CTNF requiere un componente de naturaleza no proteica para fijarse al receptor.

4.8.6. Neorregulinas

Las neorregulinas constituyen una familia de ligandos que ejercen efectos tróficos sobre las neuronas y la glía. Estudios recientes llevados a cabo en ratones con mutaciones que anulan su función indican que estos factores son necesarios para el desarrollo normal de los oligodendrocitos. El factor de crecimiento glial-2 (GGF2: ***G**lial **G**rowth **F**actor* **2**) y una de sus isoformas, la neorregulina-1, promueven la proliferación y la supervivencia e inhiben la diferenciación de las células progenitoras de los oligodendrocitos, aunque también son necesarios para la fase última de diferenciación en células maduras. La administración de GGF2 a ratones con encefalomielitis autoinmune mejora sensiblemente las manifestaciones anatomopatológicas y clínicas de la enfermedad, derivando la respuesta inmune hacia un tipo no inflamatorio mediado por células Th2. Por otra parte, la ausencia de neorregulinas en las lesiones activas de la esclerosis múltiple se ha propuesto como una causa posible de remielinización insuficiente.

4.8.7. Semaforinas

Las semaforinas representan un grupo de citokinas con función quimio-repelente que, junto a otras citokinas como las efrinas o las netrinas, regulan el desarrollo neuronal permitiendo el desarrollo y conexión de los axones. Todas ellas tienen un domi-

nio denominado "sema" de aproximadamente 500 aminoácidos, que contiene 17 residuos de cisteína muy conservados **(Figura 26)**. En función del tipo de dominio del grupo C-terminal (inmunoglobulina, trombospondina o glicosil-fosfatidil inositol), las semaforinas se han subdividido en 8 clases; en los vertebrados se expresan las clases IV, V y VI. Asimismo, se han idenficado dos tipos de receptores muy activos en el sistema nervioso: las neuropilinas 1 y 2 y la familia de las plexinas. Ambos tipos de receptores interaccionan para generar respuestas celulares, ya que las neuropilinas tienen un dominio citoplasmático muy pequeño, comportándose como receptores señuelo. Las plexinas, a su vez, se agrupan en 4 subfamilias diferentes y se caracterizan por tener también dominios "sema".

Muy recientemente se ha observado que una semaforina, la CD100/sema 4D, se produce en los linfocitos T y promueve la agregación de las células B, así como su supervivencia, y la maduración de las células dendríticas. Además, parece inhibir la migración de células inmunes mediada por otras quimiokinas y regular el crecimiento y desarrollo autónomo de las células B-1 en la cavidad peritoneal.

5. Resumen

- La comunicación intercelular se realiza fundamentalmente por hormonas, neurotransmisores, eicosanoides, factores de crecimiento y citokinas. Las señales intercelulares de comunicación mejor conocidas son las hormonas. Estas moléculas funcionan de manera endocrina, es decir, actúan sobre células lejanas a las que las producen. Las hormonas liposolubles pueden atravesar las membranas de las células diana y se unen a receptores citoplasmáticos o nucleares modulando finalmente la expresión génica. Este es el caso de las hormonas esteroideas (glucocorticoides, mineralocorticoides, gestágenos, andrógenos, estrógenos), de las hormonas tiroideas y de la hormona D. Las demás hormonas son de naturaleza hidrosoluble e interaccionan con receptores situados en la membrana celular, desencadenando procesos intracelulares muy complejos y diversos. La síntesis y la liberación de las hormonas por las glándulas endocrinas están muy reguladas, predominando los mecanismos de retroinhibición. En muchos casos, además, hay una relación de dependencia jerárquica bajo el control del hipotálamo.

- Los eicosanoides son mediadores químicos con una gran actividad biológica derivados de ácidos grasos de veinte átomos de carbono. Entre ellos, destacan las prostaglandinas, las prostaciclinas, los tromboxanos y los leucotrienos. Intervienen en la regulación de numerosos procesos biológicos y están implicados, por tanto, en muchas alteraciones patológicas. Es destacable también su interés farmacológico porque existen inhibidores de su síntesis con actividad terapéutica.

- A pesar de derivar de ácidos grasos, los eicosanoides no son muy liposolubles, por lo que interaccionan fundamentalmente con receptores de membrana. Los eicosanoides no actúan de manera endocrina, sino paracrina (sobre células vecinas) o autocrina (sobre la misma célula productora).

- Es destacable que la actividad biológica de los distintos eicosanoides está condicionada por la naturaleza de los ácidos grasos de los que proceden. De una manera general, se puede decir que los eicosanoides derivados del ácido araquidónico, el ácido graso de veinte átomos de carbono más abundante en el organismo como resultado de la alimentación habitual, son muy activos. En cambio, los eicosanoides que derivan del ácido eicosapentaenoico, procedente de una alimentación muy rica en animales marinos, suelen presentar menos actividad.

- Los factores de crecimiento y diferenciación son de naturaleza proteica y actúan siempre sobre receptores de membrana. Lo mismo ocurre con las citokinas, que son factores de crecimiento originados fundamentalmente en las células sanguíneas y que están implicados en la respuesta inflamatoria, la inmunidad y la hematopoyesis. Sólo algunas citokinas están presentes en la sangre en concentraciones detectables y tienen la propiedad de influir en células blanco distantes. Esto es lo que ocurre con el factor de crecimiento transformante β, el factor de células madre, la eritropoyetina y el factor estimulante de colonias de los monocitos. La mayor parte de las citokinas y factores de crecimiento actúan de manera paracrina o autocrina.

- Cada citokina se segrega por uno o varios tipos particulares de células como respuesta a una variedad de estímulos y origina un conjunto característico de efectos sobre el crecimiento, la movilidad, la diferenciación o la función de sus células diana. Una citokina determinada puede segregarse individualmente o como parte de una respuesta coordinada junto con otras citokinas no relacionadas. Muchas son funcionalmente redundantes, lo que significa que sus actividades se superponen en mayor o menor grado. Una citokina puede inducir la secreción de otras citokinas o mediadores químicos de un proceso, lo que desencadena una gran diversidad de efectos biológicos.

6. Bibliografía

Caestecker M. The transforming growth factor-β superfamily of receptors. Cytokine & Growth Factor Reviews 2004; 15: 1-11.
Magistral revisión sobre los factores transformadores del crecimiento.

Dempsey PW, Doyle SE, He JQ, Cheng G. The signalling adaptors and pathways activated by TNF superfamily. Cytokine & Growth Factor Reviews 2003; 14: 193-209.
Revisión sobre los mecanismos de acción del TNF y los miembros de la superfamilia.

Ellery JM, Nicholls PJ. Alternate pathways from the interleukin-2 receptor. Cytokine & Growth Factor Reviews 2002; 13: 27-46.
Revisión actualizada sobre el mecanismo de acción de la IL-2.

Funk CD. Prostaglandins and Leukotrienes: Advances in eicosanoid biology. Science 2001; 294: 1871-8.
Magnífica revisión sobre la biosíntesis, funciones biológicas y mecanismo de acción de los eicosanoides.

Geijsen N, Koenderman, Coffer PJ. Specificity in cytokine signal transduction: lessons learned from the IL-3/IL-5/GM-CSF receptor family. Cytokine & Growth Factor Reviews 2001; 12: 19-25.
Revisión sobre la estructura, efectos biológicos y mecanismo de acción de este sistema de citokinas hematopoyéticas.

Harris RC, Chung E, Coffey RJ. EGF receptor ligands. Exp Cell Res 2003; 284: 2-13.
Revisión sobre los factores de crecimiento epidérmico y sus funciones biológicas.

Heldin CH, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. Physiol Rev 1999; 1283-316.
Revisión sobre la estructura, biosíntesis, funciones biológicas y mecanismo de acción de los factores de crecimiento derivados de las plaquetas.

Ishihara K, Hirano T. IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease. Cytokine & Growth Factor Reviews 2002; 13: 357-68.
Excelente revisión sobre la estructura y funciones de la IL-6.

Lackey BR, Gray SL, Henricks DM. The insulin-like growth factor (IGF) system and gonadotropin regulation: actions and interactions. Cytokine & Growth Factor Reviews 1999; 10: 201-17.
Revisión sobre las funciones biológicas y los mecanismos de acción de los factores de crecimiento análogos a la insulina.

Langer JA, Cutrone EC, Kotenko S. The class II cytokine receptor (CRF2) family: overview and patterns of receptor-ligand interactions. Cytokine & Growth Factor Reviews 2004; 15: 33-48.
Revisión sobre el papel de los receptores de la clase II de citokinas en el mecanismo de acción de los interferones y de la familia de interleukinas IL-10.

Lösel R, Wehling M. Nongenomic Actions of Steroid Hormones. Nature Reviews, Molecular and Cell Biology 2003; 4: 46-56.
Excelente revisión de las acciones no genómicas de las hormonas esteroideas.

Menten P, Wuysts A, Van Damme J. Macrophage inflammatory protein-1. Cytokine & Growth Factor Reviews 2002; 13: 455-81.
Revisión sobre la estructura, efectos biológicos y mecanismo de acción de las quimiokinas MIP.

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. Appleton & Lange, 25th ed. Stamford, Connecticut 2000.
Excelente libro de bioquímica médica que contiene una sección muy cuidada sobre las hormonas.

Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F. Prostanoid Receptors: Structure, Properties and Functions. Physiological Reviews 1999; 79,4: 1193-225.
Revisión en profundidad de los receptores de prostanoides en relación con sus funciones biológicas.

Suites DP, Terr AI, Parslow TG. Inmunología básica y clínica. Editorial El Manual Moderno, 9ª ed. México, 2000.
Libro de inmunología con un capítulo excelente sobre las funciones y mecanismo de acción de las interleukinas, de las quimiokinas y de otras citokinas implicadas en la hematopoyesis.

7. Enlaces web

- www.indstate.edu/thcme/mwking/growth-factors.html
- www.ludwig.edu.au/crc-cgf/
- ghr.nlm.nih.gov/ghr/glossary/growthfactor
- www.cancerhelp.org.uk/help/default.asp?page=4848
- www.cancerhelp.org.uk/help/default.asp?page=4622
- www.preprotech.com

1.5. Señalización celular

Antonio Suárez García

Capítulo 1.5.

Señalización celular

1. Introducción

2. Generalidades de la transducción de señales (señalización celular)

3. Tipos de señalización celular

4. Moléculas señalizadoras

4.1. Hormonas
4.2. Óxido nítrico y monóxido de carbono
4.3. Neurotransmisores
4.4. Hormonas peptídicas, factores de crecimiento y citokinas
4.5. Eicosanoides

5. Funciones de los receptores de superficie celular

5.1. Receptores asociados a canales iónicos
5.2. Receptores asociados a proteínas G
5.3. Receptores asociados a enzimas
- 5.3.1. Receptores guanilato ciclasa
- 5.3.2. Receptores tirosina kinasa
- 5.3.3. Receptores asociados a tirosina kinasas
- 5.3.4. Receptores asociados a tirosina fosfatasas
- 5.3.5. Receptores serina/treonina kinasa

5.4. Receptores que dependen de proteólisis regulada

6. Vías de señalización celular

6.1. Vía de señalización por hormonas
6.2. Vía de señalización celular de AMPc
- 6.2.1. Fosfolípidos y Ca^{2+}
- 6.2.2. Fosfolipasa β, inositol trifosfato y Ca^{2+}
- 6.2.3. Fosfolipasa β y diacilglicerol

6.3. Vía de Ras y kinasas MAP/ERK
6.4. Vía de fosfatidilinositol-3-kinasa (PI3K)
6.5. Vía JAK/STAT y citokinas
6.6. Vía de serina/treonina kinasas y superfamilia TGF-β

6.7. Vía NF-κB, caspasas y familia del factor de necrosis tumoral (TNF)

6.8. Vía del óxido nítrico

7. Resumen

8. Bibliografía

9. Enlaces web

Objetivos

- Conocer las bases de la transmisión de información biológica entre células.
- Comprender los conceptos de transducción, ligando, receptor, afinidad y especificidad, segundo mensajero, cascada intracelular de reacciones enzimáticas, desensibilización, memoria, combinación e integración de las señales.
- Conocer los dos tipos básicos de transducción de señales.
- Conocer los cuatro tipos funcionales de receptores celulares.
- Estudiar las características bioquímicas de los receptores asociados a canales de iones.
- Estudiar las características bioquímicas de los receptores asociados a proteínas G.
- Estudiar las características bioquímicas de los receptores asociados a enzimas: receptores guanilato ciclasa, receptores tirosina kinasa, receptores asociados a tirosina kinasas, receptores asociados a tirosina fosfatasas y receptores serina/treonina kinasa.
- Estudiar las características bioquímicas de los receptores que dependen de proteólisis regulada.
- Comprender las bases de las rutas de señalización celular.
- Estudiar los distintos ejemplos de rutas y su papel biológico.

1. Introducción

En un organismo pluricelular, **ninguna célula vive aislada**. La supervivencia depende de una red compleja de comunicaciones intercelulares que coordinan el crecimiento, la división, la muerte programada, la diferenciación y el metabolismo de los múltiples tipos de células que forman los distintos tejidos. Incluso la bacteria más sencilla recibe información constante de los receptores de membrana que analizan el medio y la informan del pH, la fuerza osmótica, la disponibilidad de nutrientes y la presencia de sustancias tóxicas. Sin embargo, es en los organismos pluricelulares donde la comunicación célula-célula alcanza su grado más elevado de complejidad. Por ejemplo, durante el desarrollo, las células del embrión intercambian señales que determinan el papel de cada célula, qué posición ocupará y si continuará viviendo, morirá o se dividirá. En el ser vivo, las células eucariotas también responden a estímulos ambientales externos y a moléculas señalizadoras secretadas por otras células, permitiendo, de este modo, la comunicación célula-célula acerca de su funcionalidad, las concentraciones de glucosa e iones en los fluidos extracelulares y las actividades metabólicas interdependientes que tienen lugar en los distintos tejidos. Mientras que las células procariotas y las de los organismos eucariotas unicelulares son, en gran medida, autónomas, el comportamiento de cada célula en el ser humano ha de ser regulado cuidadosamente para satisfacer los requerimientos del organismo como un todo. Esto se consigue a través de un amplio repertorio de moléculas señalizadoras que o bien son secretadas o bien se expresan en la superficie celular, las cuales se unen a receptores expresados en otras células, integrando y coordinando de esta manera las funciones de las distintas células individuales que constituyen organismos tan complejos como el del ser humano.

A pesar de que el número de señales que hay que interpretar es enorme (antígenos, luz, contacto mecánico, moléculas gustativas, sustancias olorosas, componentes de la matriz extracelular, hormonas, factores de crecimiento, neurotransmisores), los organismos usan sólo unos pocos mecanismos conservados evolutivamente para detectar las señales extracelulares y "transducirlas" en cambios intracelulares. En esencia, el estímulo genera un mensajero químico que, tras desplazarse una distancia variable, interacciona con su receptor situado en la célula diana y provoca una cascada de reacciones intracelulares, que son las que regulan, en gran medida, los diferentes aspectos del comportamiento celular, incluyendo su metabolismo, la motilidad, la proliferación, su supervivencia y la diferenciación. A menudo, el resultado final de la señalización en el interior de la célula diana consiste en la fosforilación de unas pocas proteínas específicas que modifican su actividad metabólica.

La comprensión de los mecanismos moleculares que constituyen estas vías de señalización celular se ha convertido, por tanto, en un área prioritaria de investigación. Cada día se publican trabajos científicos que amplían el número de señales a las que las células responden, las diferencias en los distintos tipos celulares, la caracterización de nuevos receptores celulares, el descubrimiento de nuevas vías y de conexiones entre ellas en el interior celular y las alteraciones en procesos patológicos. En este Capítulo, se examinarán de forma resumida los mecanismos más importantes y conocidos de la comunicación entre células mediante señales extracelulares. Comienza el Capítulo con una visión global de los mecanismos básicos de los sistemas de transducción de señales, describiendo brevemente, a continuación, los distintos tipos de moléculas señalizadoras, sus receptores y los efectos en las proteínas intracelulares. Finaliza con la descripción de varias rutas de señalización celular más conocidas.

2. Generalidades de la transducción de señales (señalización celular)

Por lo general, la comunicación intercelular transcurre de forma similar a la comunicación entre las personas. Una persona emite un mensaje (sonido, texto, gesto, mirada…) que llega a otra persona receptora (recibido a través del oído, vista, tacto…) que lo interpreta y actúa en consecuencia. En los sistemas biológicos, la célula emisora envía un mensaje químico que interacciona con una proteína receptora y provoca la respuesta de la célula receptora diana. El desencadenante para cada sistema de señalización es diferente, pero las características generales de la transducción de señal son comunes para todos y se puede describir el proceso en seis pasos **(Figura 1)**:

1. El mensaje a transmitir provoca la síntesis de la molécula química en la **célula emisora**.

2. Esta molécula señalizadora o **ligando** es liberada por la célula emisora.

3. La molécula es transportada hasta la **célula receptora diana**.

4. La molécula transmisora o ligando interacciona con la proteína receptora específica **(receptor)** situada en la superficie o en el interior de la célula diana.

5. Esta interacción genera una señal intracelular rápida **(transducción)**, bien mediante la fosforilación o desfosforilación de proteínas intracelulares, o mediante la síntesis de un compuesto químico **(segundo mensajero)**, que provoca un cambio en el comportamiento de la célula diana a distintos niveles.

6. Tras transmitir su mensaje, la molécula señalizadora original es eliminada y finaliza la respuesta celular.

Cuando en Biología Celular se habla de señalización celular, normalmente se refiere a los pasos especificados en los puntos 4 y 5 anteriores.

Existen cientos de **moléculas señalizadoras**: proteínas y péptidos anclados en la membrana celular o secretados, pequeñas moléculas hidrófobas (hormonas esteroides…), pequeñas moléculas hidrófilas (catecolaminas…) y gases. La interacción entre la molécula señalizadora o ligando y el receptor en la célula diana es extraordinariamente específica y primorosamente sensible. Las células de los organismos pluricelulares producen cientos de moléculas señalizadoras para enviarse señales -proteínas, péptidos, aminoácidos, nucleótidos, esteroides, derivados de ácidos grasos e, incluso, gases disueltos-. En muchos casos, el ligando puede interaccionar con varios receptores específicos que generan respuestas distintas en la célula. La **especificidad** de unión se consigue mediante un ajuste espacial exacto entre el ligando y el receptor (similar al modelo de la "lla-

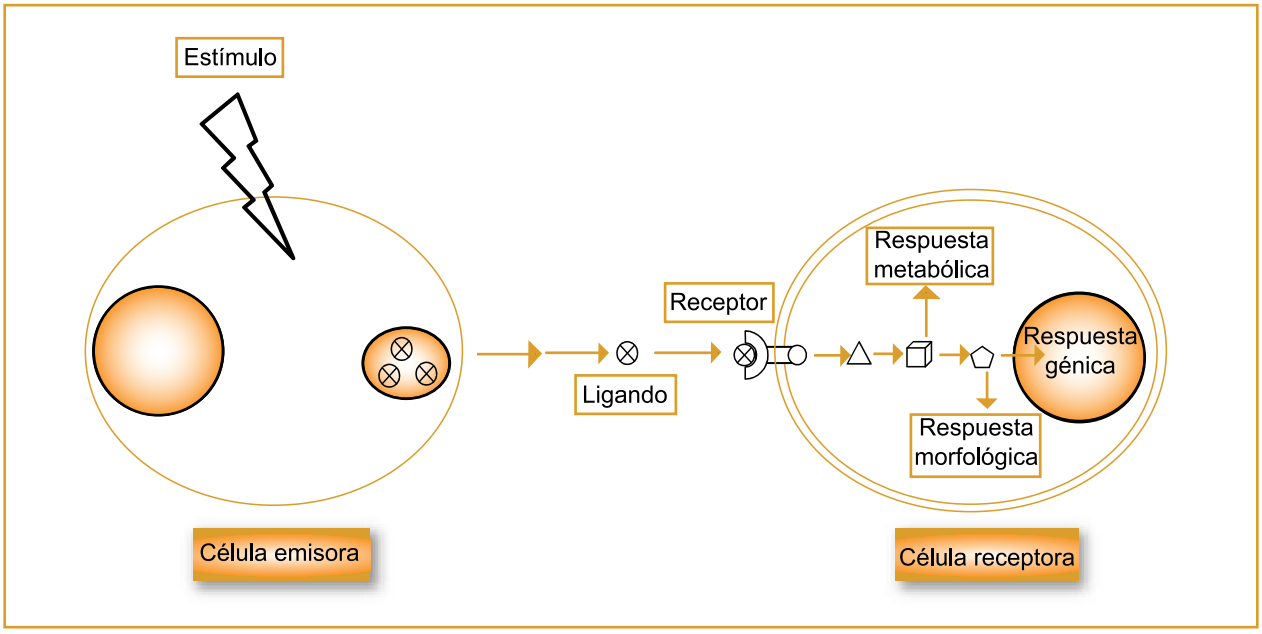


Figura 1. *Esquema del concepto de comunicación celular mediante la emisión y recepción de un mensaje entre células.*

ve-cerradura"), a una interacción molecular precisa en la que intervienen fuerzas químicas de carácter débil que hacen la unión reversible. La unión del ligando al receptor provoca en éste un cambio de conformación, que inicia una secuencia de reacciones generadoras de la respuesta celular específica. La **afinidad** entre el ligando y el receptor puede expresarse mediante la constante de disociación K_d a menudo en valores de 10^{-10} M o menor, lo que indica que un receptor puede detectar cantidades picomolares de una molécula señal.

No obstante, la sensibilidad de los sistemas receptores está sujeta a modificación. Cuando una señal está presente continuamente, se puede producir una **desensibilización** del sistema receptor por varios mecanismos. Esto puede ocurrir por endocitosis del receptor cuando ha unido el ligando y temporalmente puede secuestrarlo o degradarlo en los lisosomas. También la desensibilización puede producir un cambio en una proteína de la cascada intracelular de reacciones o generar una proteína inhibidora del proceso de transducción de la señal intracelular.

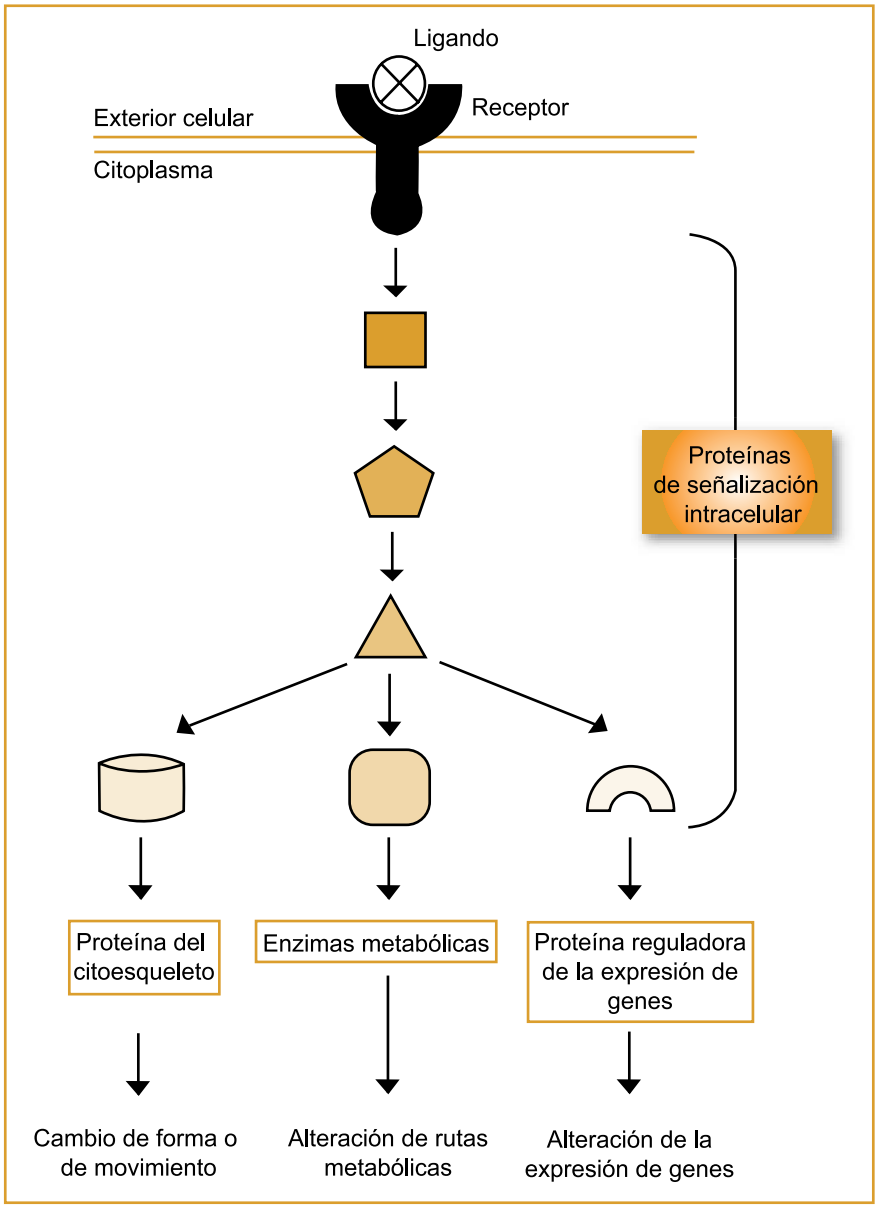


Figura 2. *Ruta de señalización intracelular activada por una molécula señal extracelular.*

Una célula puede recordar el efecto de algunas señales. El efecto de la señal se mantiene después de haber desaparecido la molécula señalizadora, de tal forma que la respuesta es memorizada. Algunos de estos cambios son para toda la vida. Son normalmente mecanismos autoactivados de **memoria** que actúan a nivel de transcripción de genes. Por ejemplo, durante el desarrollo embrionario, la señal que provoca la determinación de una célula muscular activa un conjunto de proteínas reguladoras de genes musculares que autoestimulan su transcripción, así como la de genes de otras proteínas musculares. De esta forma, la decisión del destino funcional de una célula se hace permanente.

Para conseguir que la respuesta celular a la señal sea rápida, la unión entre receptor y ligando provoca una señal en forma de **cascada intracelular de reacciones enzimáticas** (Figura 2). Es decir, la interacción receptor-ligando activa una enzima que cataliza la activación de numerosas

moléculas de una segunda enzima. Estas moléculas activadas de segunda enzima provocan a su vez la activación de muchas más moléculas de una tercera enzima, y así sucesivamente, hasta activar las proteínas diana. Amplificaciones de varios órdenes de magnitud pueden conseguirse en milisegundos, por ejemplo, cada molécula de glucagón provoca la activación de 1.000 moléculas de glucógeno fosforilasa que liberan 10.000 moléculas de glucosa al torrente sanguíneo por el hepatocito en fracciones de segundo. Las reacciones enzimáticas que emplean estas cascadas de activación/inhibición son fosforilaciones o desfosforilaciones de proteínas y reacciones proteolíticas.

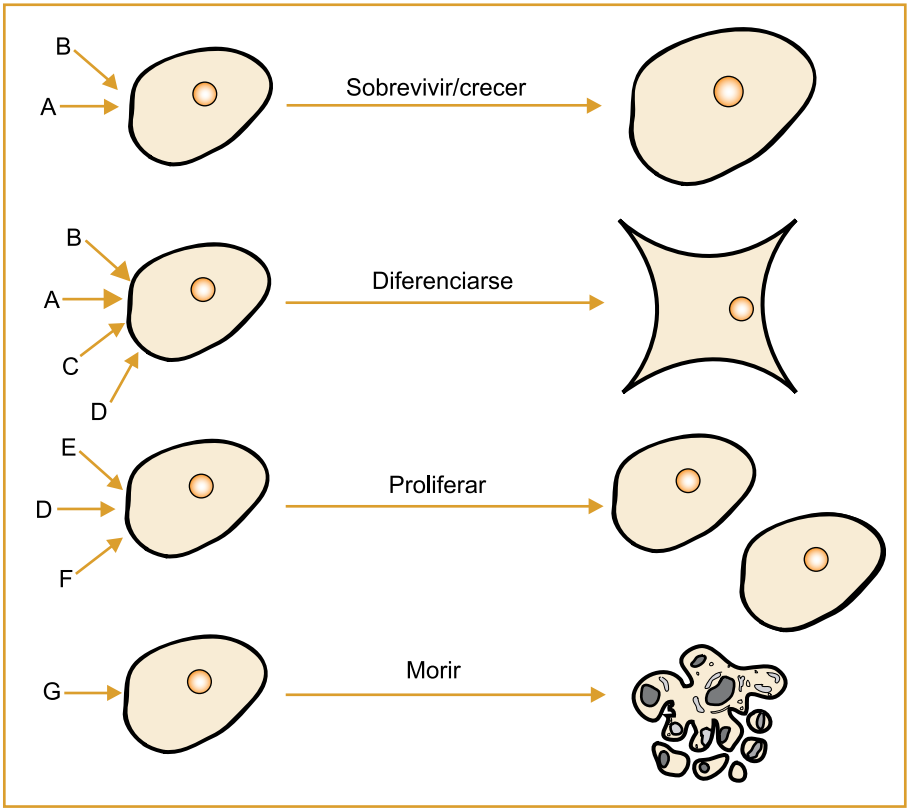


Figura 3. *Esquema de decisiones celulares posibles en respuesta a una combinación teórica de señales extracelulares.*

En un organismo pluricelular, son múltiples los mensajes que han de ser transmitidos a las células diana. La célula, expuesta a centenares de moléculas señalizadoras diferentes, ha de responder selectivamente a esta mezcla de señales. Las señales pueden ser solubles, estar unidas a las proteínas de la matriz extracelular o a la membrana plasmática de la célula vecina, y pueden actuar en millones de combinaciones posibles. Cada célula responde a una **combinación** concreta de moléculas señalizadoras y sólo poseerá los receptores para las señales a las que debe ser sensible. De los millares de receptores posibles, cada célula posee varias docenas de ellos, pero son suficientes para hacer sensible a la célula a muchas señales extracelulares. Sin el receptor adecuado, la célula es "sorda" para esa señal. El uso de estas combinaciones para controlar el comportamiento celular permite a un organismo pluricelular y multitisular controlar sus células de muy distintas maneras y de forma extremadamente eficiente y específica con pocas moléculas señalizadoras.

Por otro lado, cada señal puede causar una gran cantidad de **cambios** a distintos niveles en la célula diana -forma, movimiento, metabolismo, expresión génica-. Las posibilidades que esta organización del sistema de transmisión de señales genera son enormes porque las combinaciones posibles de señales pueden llevar mensajes múltiples, variados e interrelacionados **(Figura 3)**. La hormona liberadora de tirotropina, por ejemplo, desencadena respuestas en las células de la hipófisis anterior pero no en hepatocitos, simplemente porque éstos carecen del receptor adecuado para esta hormona. Otro ejemplo está en la acetilcolina, que en la célula cardiaca disminuye la frecuencia de sus contracciones, mientras que en la célula de la glándula salival provoca la secreción de los componentes de la saliva.

Y, por último, las distintas rutas de señalización intracelular interaccionan entre sí, creando una red de conexiones intracelulares entre rutas, que capacitan al sistema para recibir múltiples señales, interpretarlas, y producir una respuesta celular uni-

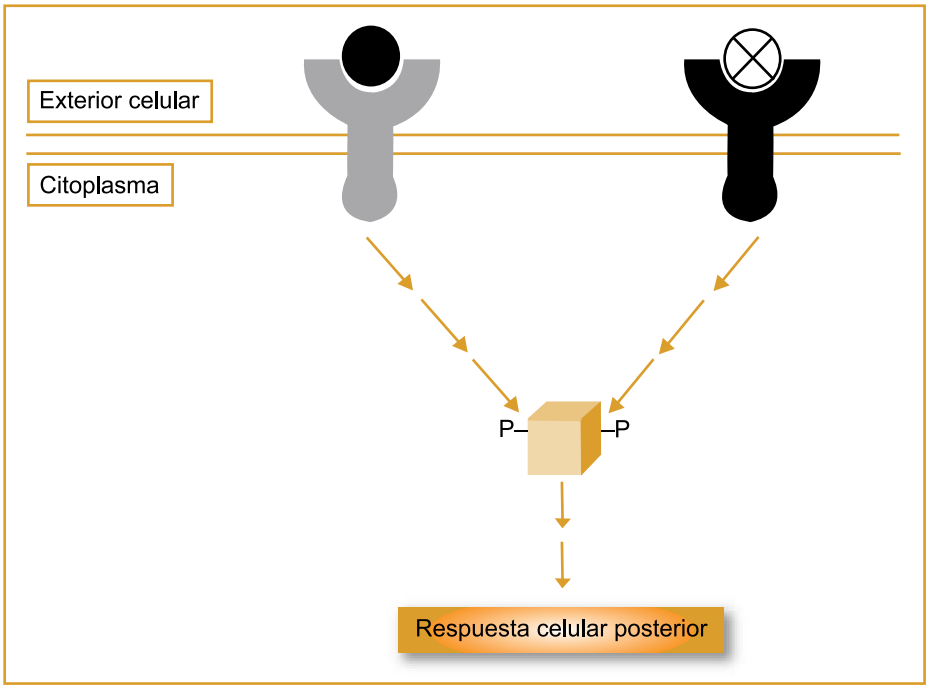


Figura 4. *Integración de señales. El comportamiento celular a menudo es la respuesta a la información proporcionada por una combinación de señales, cuyas rutas intracelulares están interconectadas, de forma que unifican el mensaje.*

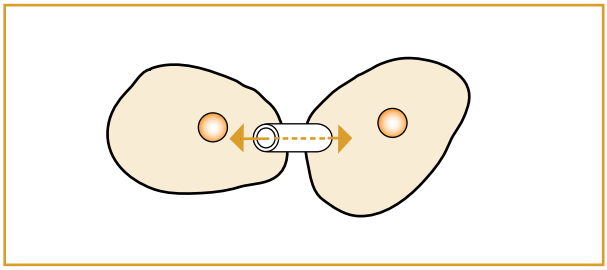


Figura 5. *Células conectadas mediante una unión comunicante que permite la transferencia de pequeñas moléculas entre células adyacentes.*

ficada y apropiada. Es la **integración** de las rutas de señalización intracelular **(Figura 4)**.

3. Tipos de señalización celular

Las células de los organismos pluricelulares poseen sistemas de envío de señales que actúan a distancias largas o cortas. En una primera instancia, dos células pueden transmitirse mensajes por contacto **célula-célula**, es decir, como en una conversación privada cara a cara. La molécula señalizadora permanece unida a la superficie celular e influencia sólo las células en contacto con ella. El mensaje es enviado mediante la unión de una proteína ligando en la superficie de la célula emisora con una proteína receptora insertada en la membrana plasmática de la célula diana. La señalización mediante interacción directa célula-célula (o célula-matriz extracelular) desempeña un papel crítico en la regulación del comportamiento de las células en los tejidos animales; por ejemplo, las integrinas y cadherinas funcionan no sólo como moléculas de adhesión celular a la matriz proteica extracelular, sino también como moléculas señalizadoras que regulan la proliferación y la supervivencia celular en respuesta al contacto célula-célula o célula-matriz extracelular. Otra forma de coordinar las actividades entre células vecinas es mediante **uniones comunicantes** (*gap junctions*). Éstas son uniones especializadas formadas entre las membranas plasmáticas que conectan directamente el citoplasma de células vecinas a través de canales estrechos. Estos canales permiten el intercambio de pequeñas moléculas señalizadoras intracelulares como Ca^{2+} o AMP cíclico (AMPc), pero no de macromoléculas como proteínas o ácidos nucleicos **(Figura 5)**. Este tipo de señalización mediante interacción directa célula-célula desempeña un papel fundamental en la regulación de las múltiples interacciones que tienen lugar entre los distintos tipos celulares del sistema inmune o durante el desarrollo embrionario, así como en el mantenimiento de los tejidos adultos.

Como ya se ha indicado en el Capítulo 1.4, los diferentes tipos de señalización mediante moléculas secretadas se suelen dividir en tres grandes clases en función de la distancia recorrida por la

molécula señalizadora. En la señalización **endocrina**, las moléculas señalizadoras (hormonas) son secretadas por células endocrinas especializadas y se transportan a través de la circulación, actuando sobre células diana distribuidas por todo el organismo. Un ejemplo clásico lo proporciona la hormona esteroidea estrógeno, que es producida por el ovario y estimula el desarrollo y mantenimiento del sistema reproductor femenino y de los caracteres sexuales secundarios. En los animales se producen más de 50 hormonas distintas por las glándulas endocrinas, entre las que se incluyen la pituitaria, tiroides, paratiroides, páncreas, glándulas suprarrenales y gónadas.

A diferencia de las hormonas, algunas moléculas señalizadoras actúan localmente, afectando al comportamiento de las células próximas. En la señalización **paracrina**, una molécula liberada por una célula actúa sobre las células diana vecinas. Actúan como mediadores de respuesta local. Un ejemplo lo proporciona la acción de los neurotransmisores que transportan la señal entre células nerviosas en la sinapsis o las moléculas señalizadoras que regulan la inflamación en los puntos de infección. Por último, algunas células responden frente a señales que producen ellas mismas, la señalización **autocrina**. Muchos factores de crecimiento actúan de este modo y, a menudo, las células los secretan para estimular su propio crecimiento y proliferación. Un ejemplo importante de esta señalización autocrina es la respuesta de las células del sistema inmune de los vertebrados frente a antígenos extraños. Algunos tipos de linfocitos T responden a la estimulación antigénica sintetizando un factor de crecimiento que induce su propia proliferación, lo que supone, por tanto, el aumento del número de linfocitos T con capacidad de respuesta y la amplificación de la respuesta inmune. Este tipo de señales es en particular frecuente en células tumorales, muchas de las cuales producen y liberan un exceso de factores de crecimiento que estimulan su propia proliferación no regulada e inadecuada, al igual que la de células adyacentes no tumorales, esencial para provocar la angiogénesis (*ver Capítulo 1.4*).

Para un organismo multicelular complejo, la señalización requiere coordinar el comportamiento de múltiples células a distancias largas. Para ello, un conjunto de células ha desarrollado un papel específico en la comunicación celular entre zonas apartadas del cuerpo. Las más sofisticadas de ellas son las neuronas que extienden largos pseudópodos o axones que les permiten contactar con células diana alejadas. Cuando la neurona es activada por señales del entorno o por otras neuronas, la célula envía un impulso eléctrico rápido a lo largo del axón, que, al llegar al extremo de éste, causa la secreción de una molécula química llamada **neurotransmisor** en el extremo terminal. Éste contacta con el receptor en la superficie de la neurona diana, activándola. La zona de contacto entre el extremo del axón con la neurona diana se denomina sinapsis. Este tipo de señalización, que como la endocrina actúa a grandes distancias, es sensiblemente más rápida, pues no depende de la difusión y del torrente sanguíneo, sino del impulso eléctrico. La velocidad de la respuesta a una señal depende no sólo del mecanismo de envío sino de la naturaleza de la respuesta en la célula diana. Si la respuesta requiere sólo cambios en proteínas ya presentes en la célula, ésta puede ocurrir en milisegundos. Si, por otro lado, la respuesta necesita cambios en la expresión génica y la síntesis de proteínas, ésta requiere horas, independientemente del mecanismo de envío de la señal.

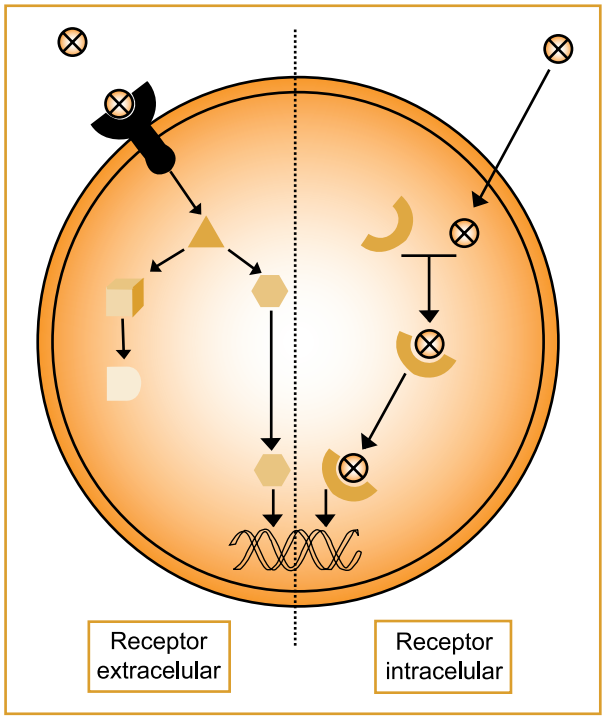


Figura 6. *Formas de señalización según la localización del receptor.*

Desde el punto de vista de la **localización del receptor** en la célula diana, existen dos modelos de señalización celular: **receptor intracelular** y **receptor superficial** (Figura 6).

En el primero, el ligando (moléculas hidrofóbicas como la testosterona o muy pequeñas como el óxido nítrico) atraviesa la membrana plasmática e interacciona con la proteína receptora en el interior celular.

Este tipo de receptores suelen ser la enzima diana de la señal o proteínas reguladoras de la expresión génica. La activación directa de la enzima receptora diana por el ligando garantiza una respuesta celular muy rápida.

En el caso de las proteínas receptoras reguladoras de la expresión génica, son estructuralmente proteínas que presentan un dominio (una parte diferenciada de la estructura tridimensional de la proteína) que une el ligando, y otro dominio efector de unión al DNA, activo sólo cuando el dominio receptor ha unido al ligando. La activación y unión del dominio efector al DNA provoca el aumento o la disminución de la transcripción de múltiples genes y afecta a la estabilidad de UNAM específicos. El efecto de la señal es eficaz durante horas o días y a menudo influye en el crecimiento y la diferenciación de tejidos específicos.

En el segundo, el ligando (una molécula hidrofílica o muy grande) interacciona con la proteína receptora en la superficie de la célula diana. Estructuralmente, la proteína receptora presenta tres partes: la extracelular que une específicamente el ligando, la transmembrana y la intracelular, que posee actividad enzimática o activadora de proteínas citoplásmicas. Cuando el mismo receptor posee **actividad enzimática**, éste actúa como transportador o puede fosforilar directamente a las proteínas diana. Es el caso, por ejemplo, del receptor de la insulina, cuya parte intracelular activada, al unir insulina en la parte extracelular, posee actividad tirosina kinasa, es decir, une covalentemente fosfatos a residuos de tirosina presentes en las proteínas diana citoplásmicas, modificando su actividad enzimática.

En otros casos, el receptor transmite por contacto la recepción del mensaje a otra proteína, una enzima citoplásmica que sintetiza un compuesto químico disparador de la cascada de reacciones enzimáticas que acaban modulando la actividad de las enzimas diana intracelulares y provocando un cambio en el comportamiento celular: es el **segundo mensajero** intracelular. Un ejemplo de compuestos que son segundos mensajeros son el Ca^{2+}, el diacilglicerol (DAG) y el AMPc, entre otros.

4. Moléculas señalizadoras

A continuación de describen brevemente las moléculas más importantes que intervienen en la señalización celular, aunque algunas de ellas, como las hormonas, los eicosanoides, las citokinas y los factores de crecimiento se han estudiado con detalle en el Capítulo 1.4, al considerar las comunicaciones intercelulares.

4.1. Hormonas

La naturaleza química, la síntesis celular, el transporte sanguíneo y los mecanismos básicos de acción de las hormonas esteroides, de las catecolaminas, de las hormonas tiroideas y de las hormonas formadas a partir de precursores proteicos se han descrito en el Capítulo 1.4.

Las **hormonas esteroideas**, las **hormonas tiroideas**, la **vitamina D_3** (*ver Capítulo 1.24*) y los **retinoides** (*ver Capítulo 1.23*) son estructural y funcionalmente muy diferentes, pero comparten el mismo mecanismo básico de acción en la señalización celular. Todas estas hormonas, demasiado hidrofóbicas para disolverse fácilmente en la sangre, se transportan por proteínas específicas desde su punto de liberación hasta sus tejidos diana. A diferencia de las moléculas señalizadoras hidrosolubles, que son degradadas en minutos, las hormonas esteroideas permanecen en sangre durante horas y las tiroideas durante días.

4.2. Óxido nítrico y monóxido de carbono

El gas sencillo óxido nítrico (NO) es una radical libre que actúa como molécula señalizadora paracrina fundamental en los sistemas nervioso, inmune y circulatorio. Al igual que las hormonas esteroideas, el NO es capaz de difundir directamente a través de la membrana plasmática de sus células diana. Sin embargo, el fundamento molecular de la acción del NO es diferente al de la acción de las hormonas esteroideas. Otro gas sencillo, el **monóxido de carbono** (CO), también funciona como una molécula señalizadora en el sistema nervioso. El CO actúa de la misma forma que el NO, por estimulación de la guanilato ciclasa. La síntesis

del CO en células cerebrales, al igual que la del NO, es estimulada por neurotransmisores.

4.3. Neurotransmisores

Los neurotransmisores llevan las señales entre las neuronas o desde las neuronas a algún otro tipo de célula diana (como las células musculares). Son un grupo diverso de moléculas pequeñas, hidrofílicas, que incluye la acetilcolina, dopamina, adrenalina (adrenalina), serotonina, histamina, glutamato, glicina y ácido γ-amino butírico (GABA). La señal de liberación de los neurotransmisores es la llegada de un potencial de acción al terminal de la neurona. Una vez liberados, los neurotransmisores difunden a través del espacio sináptico y se unen a los receptores de superficie de la célula diana. Hay que destacar que algunos neurotransmisores también actúan como hormonas. Por ejemplo, la adrenalina funciona como un neurotransmisor y como una hormona producida por la glándula suprarrenal para activar la hidrólisis del glucógeno en las células musculares. Debido a que los neurotransmisores son moléculas hidrofílicas, no son capaces de atravesar la membrana plasmática de las células diana. Por ello, y a diferencia de las hormonas esteroideas y el NO o el CO, el mecanismo de actuación de los neurotransmisores es mediante la unión a receptores celulares de superficie. Muchos receptores de neurotransmisores son canales iónicos regulados por ligando, como el receptor de acetilcolina. El neurotransmisor que se une a estos receptores induce un cambio conformacional tal que se abre el canal iónico, lo que permite una variación del flujo de iones en la célula diana. Otros receptores de neurotransmisores están acoplados a proteínas G -un grupo importante de moléculas señalizadoras que acoplan los receptores de superficie celular a diversas respuestas intracelulares-. En el caso de los receptores de neurotransmisores, las proteínas G asociadas actúan regulando indirectamente la actividad de los canales iónicos.

4.4. Hormonas peptídicas, factores de crecimiento y citokinas

En los animales, las moléculas señalizadoras más diversas son los péptidos, cuyo tamaño oscila entre sólo unos pocos aminoácidos hasta más de 100. Este grupo de moléculas señalizadoras incluye las hormonas peptídicas, neuropéptidos y un amplio espectro de factores de crecimiento polipeptídicos. Ejemplos bien conocidos de hormonas peptídicas son la insulina, el glucagón y las hormonas producidas por la glándula pituitaria (hormona del crecimiento, hormona estimulante del folículo, prolactina y otras). En muchos casos, las hormonas peptídicas son sintetizadas como precursores inactivos denominados preprohormonas, que son activados mediante proteólisis.

Los **factores de crecimiento** polipeptídicos incluyen una amplia gama de moléculas señalizadoras que controlan el crecimiento y la diferenciación de las células animales (*ver Capítulo 1.4*). El primero de estos factores (el factor de crecimiento nervioso o NGF) fue descubierto por Rita Levi Montalcini en los años 50 del siglo XX. El NGF pertenece a una familia de polipéptidos (denominados neurotrofinas) que regulan el desarrollo y la supervivencia de las neuronas. Durante el transcurso de experimentos con el NGF, Stanley Cohen descubrió casualmente un factor diferente (denominado factor de crecimiento epidérmico, o EGF) que estimula la proliferación celular. El EGF, un polipéptido de 53 aminoácidos, se considera el prototipo de una amplia serie de factores de crecimiento que desempeñan un papel fundamental en el control de la proliferación celular) tanto durante el desarrollo embrionario como en el organismo adulto.

Un buen ejemplo de la acción de los factores de crecimiento lo proporciona la actividad del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) en la cicatrización de las heridas. El PDGF se almacena en las plaquetas y se libera durante la coagulación sanguínea en el lugar de la herida. Entonces, estimula la proliferación de fibroblastos en la proximidad del coágulo, lo que contribuye a la regeneración del tejido dañado (*ver Capítulo 1.4*).

Los miembros de otro gran grupo de factores de crecimiento polipeptídicos (denominados **citokinas**) regulan el desarrollo y la diferenciación de las células sanguíneas y controlan la actividad de los linfocitos durante la respuesta inmune. Otros factores de crecimiento polipeptídicos (factores de crecimiento anclados a la membrana) permanecen asociados a la membrana plasmática en vez de ser secretados al fluido extracelular; por tanto, actúan específicamente como molécuias señalizadoras en

las interacciones directas célula-célula (*ver Capítulo 1.4*).

Las hormonas peptídicas, los neuropéptidos y los factores de crecimiento no pueden atravesar la membrana plasmática de las células diana, por lo que actúan mediante la unión a receptores de superficie celulares. Tal y como cabría esperar del papel crucial que desempeñan los factores de crecimiento polipeptídicos en el control de la proliferación celular, las alteraciones en la señalización mediada por factores de crecimiento son la fuente de multitud de enfermedades, incluyendo muchos tipos de cáncer; por ejemplo, la expresión alterada de un receptor relacionado con el receptor del EGF es un factor importante para el desarrollo del cáncer de ovario y de pulmón en el hombre.

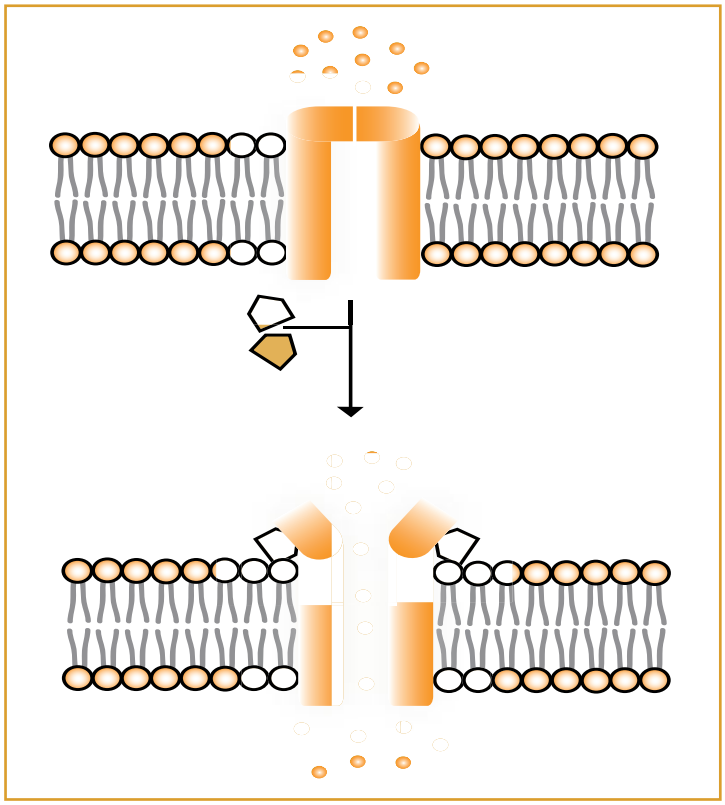


Figura 7. *Esquema de la apertura de un canal iónico y del paso de iones.*

4.5. Eicosanoides

Muchos tipos de lípidos sirven como moléculas señalizadoras que, a diferencia de las hormonas esteroideas, actúan mediante la unión a receptores de superficie celular. Los más importantes de este tipo de moléculas son los miembros de una clase de lípidos denominados **eicosanoides**, que incluyen las prostaglandinas, las prostaciclinas, los tromboxanos y los leucotrienos. La biosíntesis, mecanismo de acción, catabolismo y efectos biológicos de los eicosanoides se han descrito en el Capítulo 1.4. Los eicosanoides se hidrolizan rápidamente, por lo que actúan localmente en vías de señalización autocrinas o paracrinas, estimulando una gran diversidad de respuestas en las células diana, como, por ejemplo, la agregación plaquetaria, la inflamación y la contracción del músculo liso.

5. Funciones de los receptores de la superficie celular

En contraste con las hormonas esteroideas y tiroideas, la gran mayoría de las moléculas señalizadoras son proteínas hidrofílicas, péptidos y otras moléculas hidrosolubles, que son incapaces de atravesar la membrana de la célula diana. Por lo tanto, sus proteínas receptoras han de colocarse a través de la membrana plasmática, de forma que puedan detectar la señal en el exterior y transmitir el mensaje, con un formato nuevo, a través de la membrana y hacia el interior de la célula. En muchos casos, los receptores de superficie, una vez activados, desencadenan la adición de grupos fosfato a una red de proteínas intracelulares diana, modificando su actividad y, en consecuencia, el comportamiento celular. Por lo tanto, un reto fundamental en la comprensión de la señalización célula-célula es desenmascarar los mecanismos mediante los que los receptores celulares de superficie transmiten las señales iniciadas por la unión del ligando.

La mayoría de las proteínas receptoras de la superficie celular pertenecen a una de estas tres clases definidas por el mecanismo de transducción que emplean. De forma resumida, se describen a continuación:

1. Receptores asociados a canales de iones (Figura 7), también conocidos como ca-

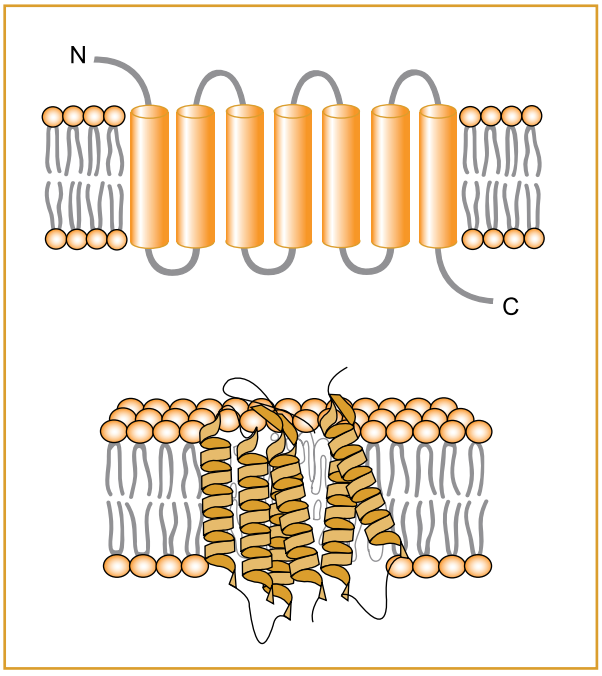


Figura 8. *Estructura de un receptor de siete dominios transmembrana.*

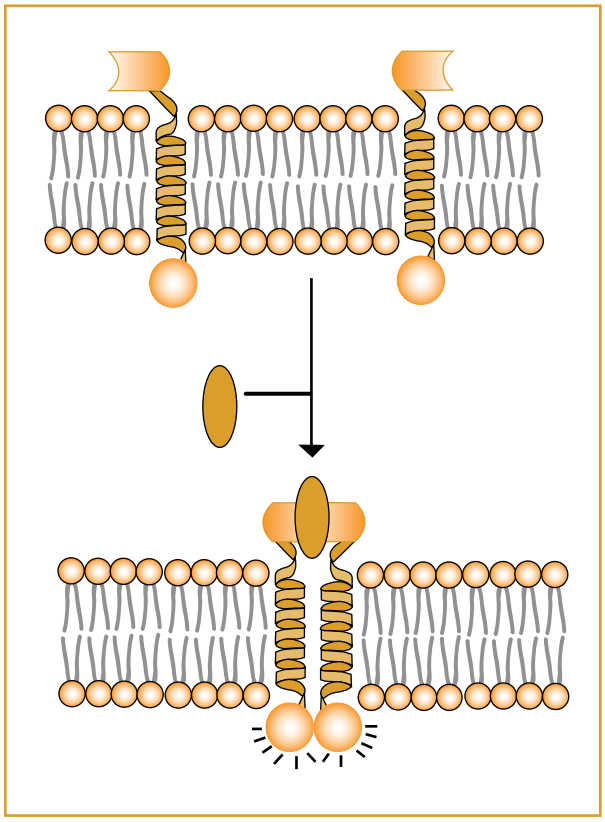


Figura 9. *Esquema de la unión de un ligando a un receptor asociado a enzimas.*

nales iónicos, canales iónicos regulados por transmisores o receptores ionotrópicos. Estos receptores controlan de manera directa el flujo de iones a través de la membrana plasmática entre células eléctricamente excitables. Este tipo de señalización la realizan un conjunto de neurotransmisores que abren o cierran el canal iónico al unirse al receptor, cambiando la permeabilidad iónica de la membrana celular y, en consecuencia, la excitabilidad de la célula postsináptica. Impulsados por su gradiente iónico, los iones (Na^+, K^+, Ca^{2+} o Cl^-) se precipitan hacia adentro o hacia afuera de la célula, generando un cambio de potencial de membrana en un milisegundo. Estos receptores pertenecen a una gran familia de proteínas transmembrana homólogas.

2. Receptores asociados a proteínas G (Figura 8). Este tipo de receptores actúan regulando indirectamente la actividad de una proteína diana intracelular anclada a la membrana, que puede ser un canal iónico o una enzima. La unión del ligando al receptor activa esta proteína diana por mediación de una tercera proteína, la proteína que une GTP o proteína G. Si la proteína diana es una enzima, su activación por la proteína G provoca la síntesis de uno o varios mediadores intracelulares de la señal. Si la proteína diana es un canal iónico, la proteína G cambia la permeabilidad iónica de la membrana plasmática. Todos los receptores asociados a proteínas G pertenecen a una familia numerosa de proteínas cuya estructura posee siete segmentos transmembrana.

3. Receptores asociados a enzimas (Figura 9), que, cuando son activados por el ligando, o funcionan directamente como enzimas o están asociados a enzimas intracelulares que activan. Estructuralmente, estas proteínas son más heterogéneas que las de las clases anteriores, pero se caracterizan por poseer un único dominio transmembrana. La gran mayoría de estos receptores son proteína kinasas o están asociados a proteína kinasas, es decir, la unión del ligando provoca la fosforilación de proteínas diana intracelulares por parte del receptor o la proteína asociada.

4. Existen algunos **receptores** más que no encajan en ninguna de estas tres clases. Algunos dependen de su **proteólisis intracelular** para generar la señal intracelular.

El número de tipos de receptores diferentes de cada una de estas cuatro clases es incluso mayor

que el número de señales extracelulares que actúan sobre ellos, ya que, para muchas moléculas señalizadoras extracelulares, hay más de un tipo de receptor; por ejemplo, el neurotransmisor acetilcolina actúa sobre las células del músculo esquelético a través de un receptor asociado a un canal iónico, mientras que en las células del músculo cardiaco actúa a través de un receptor asociado a una proteína G. Estos dos tipos de receptores generan diferentes señales intracelulares, lo cual permiten que los dos tipos de células musculares reaccionen a la acetilcolina de maneras diferentes.

La señal química en el exterior celular interacciona con el receptor de superficie (de los tipos mencionados previamente en los puntos 2 y 3) y éste transmite el mensaje, con un formato químico nuevo, a través de la membrana y hacia el interior de la célula. Este formato químico intracelular está formado por un conjunto distinto de posibles moléculas denominadas **segundos mensajeros** intracelulares. Su presencia en el interior celular desencadena una cascada de reacciones enzimáticas que terminan con la activación de las proteínas diana, que alteran el comportamiento celular. Los receptores pueden provocar la síntesis de alguno de estos segundos mensajeros: AMPc, GMP cíclico (GMPc), DAG, 1,4,5-inositol trifosfato (IP_3) y Ca^{2+}.

La multitud de receptores de membrana diferentes que el cuerpo necesita para sus propósitos señalizadores también pueden constituir dianas para muchas sustancias extrañas que interfieren en nuestros procesos fisiológicos y nuestros sentidos, desde la heroína y la nicotina hasta los tranquilizantes y el chile y la pimienta. Estas sustancias, o bien se parecen al ligando natural del receptor y ocupan el lugar de unión de este ligando normal, o bien se unen al receptor en algún otro lugar, bloqueando o sobreestimulando su actividad natural. Muchos **fármacos** y **venenos** actúan de esta manera; una gran parte de la industria farmacéutica está dedicada a la búsqueda de sustancias que ejerzan un efecto definido de gran precisión, mediante su unión a un tipo específico de receptor de membrana.

5.1. Receptores asociados a canales iónicos

La mayoría de proteínas de canal de la membrana plasmática de las células animales conectan el citosol con el exterior celular, por lo que necesariamente han de tener poros estrechos altamente selectivos. Estas proteínas están relacionadas específicamente con el transporte de iones inorgánicos, por lo que se denominan **canales iónicos** **(Figura 7)**. A través de cada canal pueden pasar más de 1.000.000 de iones cada segundo. La función de los canales iónicos es permitir que iones inorgánicos específicos, mayoritariamente Na^+, K^+, Ca^{2+} o Cl^-, puedan difundir a favor de su gradiente electroquímico a través de la bicapa lipídica. Esto no quiere decir, sin embargo, que el transporte a través de canales iónicos no esté regulado. Por el contrario, la capacidad de regular el flujo de iones es esencial para la función de muchos tipos celulares. Concretamente, las células nerviosas se han especializado en la utilización de canales iónicos y, de ahí, se considerará de qué forma utilizan una gran variedad de dichos canales para recibir, conducir y transmitir señales.

Los **receptores asociados a canales iónicos**, también conocidos como canales iónicos regulados por transmisores, son los receptores utilizados para la transmisión rápida a través de las **sinapsis** del sistema nervioso **(Figura 10)**: transducen directamente una señal química -en forma de un pulso de neurotransmisor liberado al exterior de la célula diana- en una señal eléctrica -en forma de un cambio en el voltaje a través de la membrana plasmática-. Los canales se hallan concentrados en la membrana plasmática de la célula postsináptica en la región de la sinapsis. Los canales iónicos fluctúan entre estado abierto y estado cerrado, mediante el empleo de "puertas" que se abren o cierran en función de estímulos específicos, en concreto, de la unión del ligando. Cuando se une el ligando o neurotransmisor, el receptor cambia su conformación, abriendo o cerrando un canal al flujo a través de la membrana de determinados iones, como Na^+, K^+, Ca^{2+} o Cl^-. Impulsados por su gradiente electroquímico, los iones se precipitan hacia adentro o hacia afuera de la célula, generando un cambio en el potencial de membrana en cuestión de aproximadamente un milisegundo. Esto puede inducir un impulso nervioso o alterar la capacidad de otras señales para hacerlo. La apertura de canales de Ca^{2+} tiene efectos muy particulares, ya que los cambios en la concentración intracelular de Ca^{2+} pueden alterar profundamente la actividad de muchas enzimas.

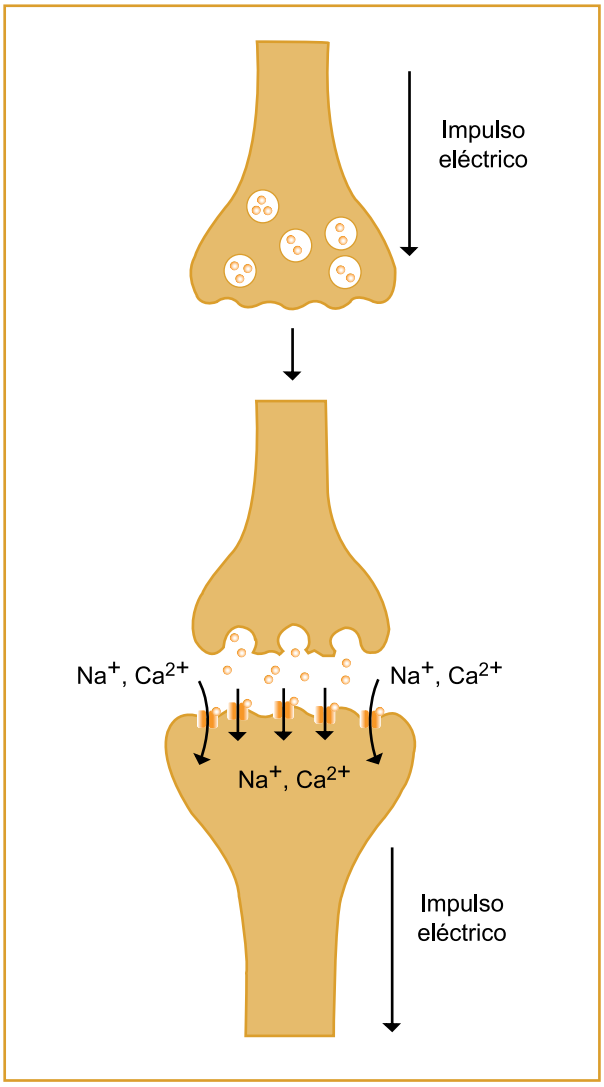


Figura 10. *Señalización mediante la sinapsis celular.*

Hasta ahora se han descrito más de 100 tipos de canales iónicos, y todavía se están descubriendo más. Estos canales presentan **selectividad iónica**, es decir, permiten que algunos iones puedan pasar y otros no. Esto sugiere que sus poros deben ser suficientemente estrechos en algunos lugares como para permitir que los iones entren en contacto íntimo con las paredes del canal, de tal manera que sólo los iones de tamaño y carga adecuados puedan atravesarlos. Son responsables de la excitabilidad eléctrica del músculo y median la mayoría de formas de señales eléctricas en el sistema nervioso. Una célula nerviosa típica contiene 10 tipos diferentes o más de canales iónicos, localizados en diferentes áreas de su membrana plasmática. Sin embargo, estos canales no sólo se presentan en células excitables eléctricamente, sino que también se hallan en todas las células animales. Quizás los canales iónicos más comunes son los permeables principalmente al K^+ que se encuentran en la membrana plasmática de casi todas las células animales.

El **mecanismo** habitual de transmisión de mensaje empleando receptores asociados a canales iónicos es indirecto y transcurre de la siguiente forma. Las células se hallan aisladas eléctricamente una de otra, estando la célula presináptica separada de la célula postsináptica por una estrecha hendidura sináptica. Un cambio del potencial eléctrico en la célula presináptica desencadena la liberación de una pequeña molécula señal conocida como neurotransmisor, el cual se almacena en vesículas sinápticas rodeadas de membrana y se libera por exocitosis. El neurotransmisor difunde rápidamente a través de la hendidura sináptica y provoca un cambio eléctrico en la célula postsináptica a través de un canal iónico regulado por transmisor. Una vez que el neurotransmisor ha sido secretado, es rápidamente eliminado, bien por enzimas específicas de la hendidura sináptica bien por recaptación -tanto por la terminal nerviosa que lo ha liberado como por las células gliales vecinas-.

Respecto del mecanismo molecular, el mejor ejemplo es el del **receptor de acetilcolina** que ocupa un lugar especial en la historia de los canales iónicos. Fue el primer canal iónico que fue purificado, el primero del que se conoció la secuencia completa de aminoácidos, el primero en ser reconstituido funcionalmente en bicapas lipídicas sintéticas y el primero para el que se registró la señal eléctrica de un solo canal abierto. El receptor de acetilcolina de la fibra muscular esquelética está compuesto por cinco polipéptidos transmembrana, dos de un tipo y otros tres, codificados por cuatro genes diferentes. Los cuatro genes tienen una secuencia muy similar, lo cual implica que probablemente han evolucionado a partir de un gen ancestral común. Cada uno de los dos polipéptidos idénticos del pentámero tiene lugares de unión a la acetilcolina. Cuando dos moléculas de acetilcolina se unen al complejo pentamérico, inducen un cambio de conformación que abre el canal. El canal permanece abierto durante, aproximadamente, 1 milisegundo y entonces se cierra. Posteriormente, las moléculas de acetilco-

lina se disocian del receptor y son hidrolizadas por una enzima específica (la acetilcolinesterasa) localizada en la sinapsis neuromuscular. Una vez se ha liberado del neurotransmisor al que se había unido, el receptor de acetilcolina revierte a su estado inicial de reposo.

Por último, cabe indicar que los canales iónicos regulados por transmisor son las dianas principales de la acción de numerosos fármacos y tóxicos alimentarios.

5.2. Receptores asociados a proteínas G

La familia más numerosa de receptores de la superficie celular transmite las señales al interior de la célula a través de proteínas que unen nucleótidos de guanina, denominadas proteínas G. Se han identificado más de 100 de estos receptores asociados a proteínas G, entre los que se incluyen los receptores de hormonas peptídicas, neurotransmisores y mediadores locales, de estructura tan variada como lo es su función: la lista incluye proteínas y pequeños péptidos, aminoácidos y derivados de ácidos grasos. Un mismo ligando puede activar muchos miembros diferentes de la familia; por ejemplo, la adrenalina puede activar por lo menos 9 miembros diferentes de receptores asociados a proteínas G, la acetilcolina a 5 o más y la serotonina por lo menos a 15 de ellos.

A pesar de la diversidad química y funcional de las moléculas señal que se unen a ellos, todos los receptores asociados a proteína G de los que se conoce su secuencia de aminoácidos a partir de estudios de secuenciación de DNA, tienen una estructura similar y están, casi con toda seguridad, relacionados evolutivamente. Están formados por una sola cadena polipeptídica que atraviesa siete veces, arriba y abajo, la bicapa lipídica, denominadas siete hélices α-transmembrana **(Figura 8)**. La unión del ligando al dominio extracelular de estos receptores induce un cambio conformacional que permite al dominio citosólico del receptor unirse a una proteína G unida a la cara interna de la membrana plasmática. Esta interacción activa la proteína G, la cual se disocia del receptor y transmite la señal a una diana intracelular.

El descubrimiento de las proteínas G se produjo a partir del estudio de hormonas (como la adrenalina) que regulan la síntesis del AMPc en las células diana. En los años 70, Martin Rodbell *et al*. realizaron el descubrimiento clave de que el GTP es necesario para la estimulación hormonal de la adenilato ciclasa, la enzima que sintetiza AMPc. Esto condujo, a su vez, al descubrimiento de que una proteína que une nucleótidos de guanina (proteína G) era un intermediario de la activación de la adenilato ciclasa. Desde entonces, se ha encontrado un vasto conjunto de proteínas G que actúan a modo de interruptores fisiológicos, regulando la actividad de diversas dianas intracelulares en respuesta a señales extracelulares.

Las proteínas G están constituidas por tres subunidades, designadas α, β y γ **(Figura 11)**. Frecuentemente, se las denomina proteínas G triméricas, para distinguirlas de otras proteínas que unen nucleótidos de guanina, como la proteína Ras, que se estudiará más adelante. Desde el punto de vista de su actividad enzimática, las proteínas G son GTPAsas, es decir, emplean la energía del enlace fosfato del GTP que pasa a GDP para su actividad. En la célula, las proteínas G están unidas a GTP (están activas) o a GDP (están inactivas). Cuando el receptor se une al ligando, el receptor hace que la proteína G desprenda el GDP, una GTP, pase a su forma activa, difunda lejos del receptor y transmita su mensaje.

En la proteína G, cada subunidad juega un papel distinto. Las subunidades α y γ están ancladas a la membrana mediante un ácido graso C_{15} o C_{20}. La subunidad α se une a los nucleótidos de guanina, que regulan la actividad de la proteína G. En el estado inactivo, α se une al GDP formando un complejo con β y γ. La unión de la hormona induce un cambio conformacional tal en el receptor que el dominio citosólico de éste interacciona con la proteína G estimulando la liberación del GDP y su intercambio por GTP. La subunidad α unida al GTP, ahora activada, se disocia de β y γ, que permanecen unidas, constituyendo un complejo $\beta\gamma$. Tanto la subunidad α unida al GTP activa como el complejo $\beta\gamma$ interaccionan con sus dianas para dar lugar a una respuesta intracelular. La subunidad α se inactiva por la hidrólisis del GTP unido a ella, de tal manera que la subunidad α inactiva (ahora unida al GDP) se reasocia con el complejo $\beta\gamma$, quedando, así, listo para el comienzo de un nuevo ciclo.

En mamíferos se han descrito al menos 20 subunidades α, 4 subunidades β y 7 subunidades γ. La asociación de distintas subunidades genera proteínas G distintas que se asocian a receptores distin-

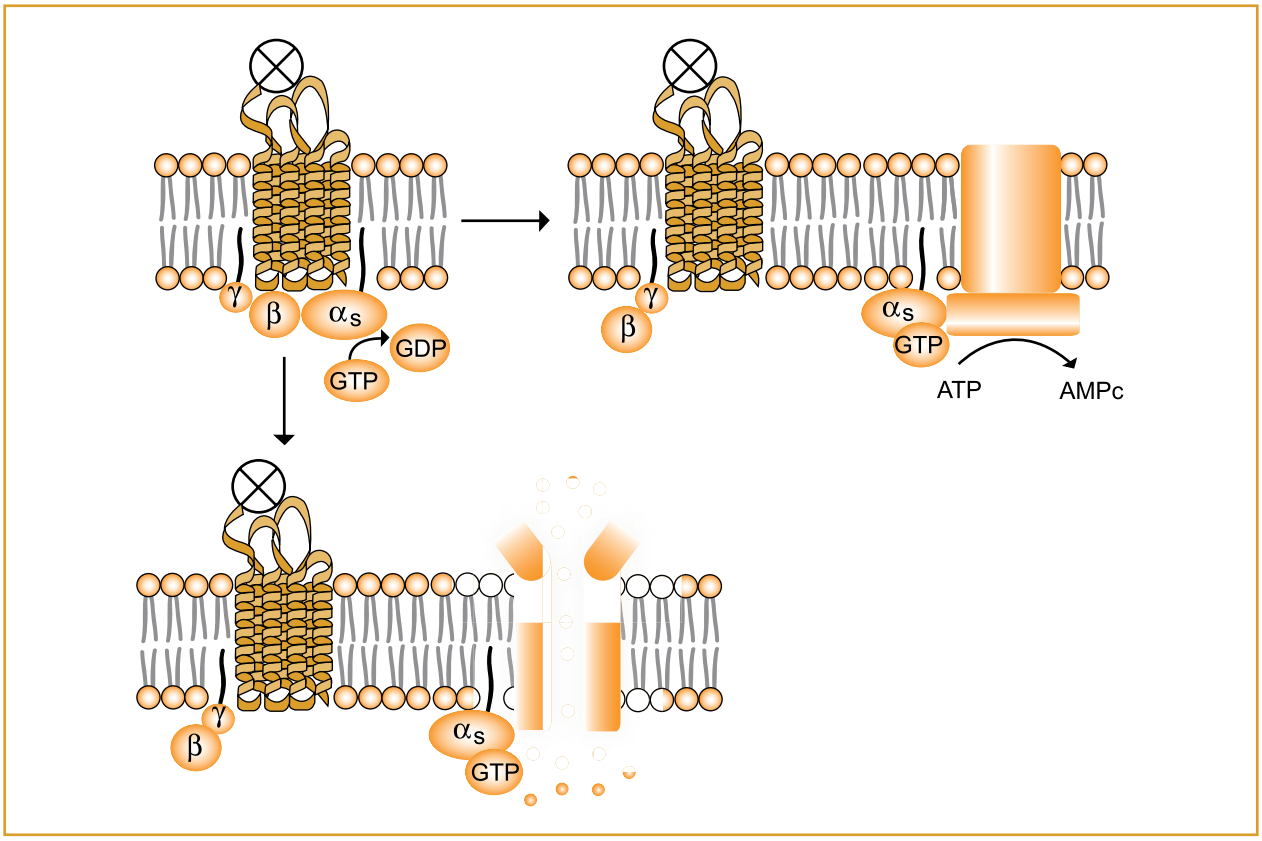


Figura 11. *Señalización mediante proteínas G.*

tos, de tal manera que esta panoplia de proteínas G acopla los receptores a diferentes dianas intracelulares **(Tabla 1)**. Las proteínas G transmiten el mensaje de la llegada de la hormona a la superficie celular a dos tipos de proteínas diana: una enzima (adenilato ciclasa) o un canal iónico **(Figura 11)**. El resultado es que aumentan las concentraciones intracelulares de los segundos mensajeros AMPc o de iones, respectivamente. Por ejemplo, la proteína G asociada al receptor de la adrenalina se denomina G_s porque su subunidad α_s estimula la enzima adenilato ciclasa. Las subunidades α y $\beta\gamma$ de otras proteínas G actúan, sin embargo, inhibiendo la adenilato ciclasa o regulando la actividad de otras enzimas diana.

Si las células son capaces de responder rápidamente a cambios en la concentración de una molécula señal extracelular, la activación de la adenil ciclasa puede ser revertida rápidamente en cuanto el ligando señal se disocia del receptor. Esta capacidad para responder rápidamente a los cambios está asegurada, debido a que la vida media de la forma activa de α_s es corta: la actividad GTPAsa de α_s se estimula cuando α_s se une a la adenil ciclasa, de forma que el GTP unido a ella se hidroliza a GDP, generando α_s, y la adenil ciclasa inactiva. Entonces, α_s se vuelve a asociar a $\beta\gamma$ dando lugar de nuevo a una molécula G_s inactiva.

Si el AMPc no es eliminado tras producir la respuesta celular, el efecto de la hormona se prolonga indefinidamente. Éste es el caso que se observa en pacientes que sufren de cólera, en los que la toxina bacteriana responsable de los síntomas de esta enfermedad inhibe el mecanismo de autoinactivación de α_s. La toxina colérica es una enzima que cataliza la transferencia de ADP ribosa desde NAD^+ intracelular a α_s. La ADP ribosilación altera α_s, de forma que pierde la capacidad de hidrolizar el GTP que tiene unido. Las moléculas de adenil ciclasa activadas por estas α_s alteradas permanecen activas indefinidamente. La elevación prolongada de los niveles de AMPc en las células epiteliales intestinales provoca un gran eflujo de Na^+ y de agua en el intestino, que es responsable de la severa diarrea característica del cólera.

Tabla I. SEÑALIZACIÓN A TRAVÉS DE PROTEÍNAS G

Clase de G_α	Señal de iniciación	Efecto	Proteína efectora asociada	Segundo mensajero
G_s	• Aminas β-adrenérgicas • Glucagón • Hormona paratiroidea	↑	Adenilato ciclasa	AMPc
		↑	Canal de Ca^{2+}	Ca^{2+}
		↓	Canal de Na^+	Cambio de potencial de membrana
G_i	• Acetilcolina • Aminas α-adrenérgicas • Neurotransmisores	↓	Adenilato ciclasa	AMPc
		↑	Canal de K^+	Cambio de potencial de membrana
		↓	Canal de Ca^{2+}	Ca^{2+}
G_t	Fotones	↑	GMPc fosfodiesterasa	GMPc
G_q	• Acetilcolina • Aminas α-adrenérgicas • Neurotransmisores	↑	Fosfolipasa C	IP_3 y Ca^{2+}

Además de regular enzimas diana, tanto la subunidad α como las βγ de algunas proteínas G regulan directamente canales iónicos. El latido cardiaco está controlado por dos tipos de fibras nerviosas; uno de estos tipos acelera el corazón; el otro lo ralentiza. Las fibras nerviosas que provocan una disminución en la velocidad de contracción lo consiguen mediante la liberación de acetilcolina, que se une a un receptor asociado a proteínas G en las fibras musculares del corazón. Cuando la acetilcolina se une al receptor, la proteína G es activada, disociándose en una subunidad α y un complejo βγ. En este ejemplo, en particular, el componente activo en la señalización es el complejo βγ: se une a la cara intracelular de un canal de K^+ de la membrana plasmática de la fibra muscular cardiaca, forzando al canal iónico a adquirir una conformación abierta. Esto altera las propiedades eléctricas de la célula cardiaca, haciendo que se contraiga menos frecuentemente. La acción del complejo βγ finaliza y el canal de K^+ se cierra de nuevo, cuando la subunidad α se inactiva mediante la hidrólisis del GTP que tenía unido y se reasocia formando de nuevo la proteína G inactiva.

5.3. Receptores asociados a enzimas

Los receptores asociados a enzimas fueron descubiertos debido a su papel en las respuestas a los factores de crecimiento. Éstos actúan como mediadores locales, a concentraciones muy bajas, que generan respuestas celulares lentas, pues requieren muchos pasos de transducción intracelular hasta que se modifica la expresión génica. Como los receptores asociados a proteínas G, los receptores asociados a enzimas son proteínas transmembrana cuyo dominio N-terminal de unión al ligando se halla sobre la superficie exterior de la membrana plasmática. En lugar de tener un dominio C-terminal citosólico que se asocia a una proteína G trimérica, sus dominios citosólicos tienen una actividad enzimática asociada o están asociados directamente a una enzima. Mientras que los receptores asociados a proteínas G atraviesan siete veces la membrana, habitualmente cada subunidad de los receptores catalíticos la atraviesan una sola vez.

Existen cinco clases conocidas de receptores asociados a enzimas:

1. Los **receptores guanilato ciclasa**, que catalizan la producción de GMPc en el citosol.

2. Los **receptores tirosina kinasa**, que fosforilan determinados residuos de tirosina de un pequeño grupo de proteínas señal intracelulares.

3. Los **receptores asociados a tirosina kinasas**, que están asociados a proteínas que tienen actividad tirosina kinasa.

4. Los **receptores tirosina fosfatasa**, que eliminan grupos fosfato de residuos de tirosina de determinadas proteínas señal intracelulares.

5. Los **receptores serina/treonina kinasa**, que fosforilan determinados residuos serina o treonina de algunas proteínas intracelulares.

5.3.1. Receptores guanilato ciclasa

Este tipo de receptores poseen un dominio extracelular de unión al ligando -los péptidos natriuréticos atriales o la guanilina-, un dominio único transmembrana con estructura de hélice α, y un dominio intracelular enzimático -guanilato ciclasa-. La unión del ligando activa el dominio guanilato ciclasa que sintetiza GMPc -el segundo mensajero- a partir de GTP. Estos receptores emplean al GMPc como mediador intracelular, de la misma forma que los receptores asociados a proteínas G emplean AMPc, con la diferencia de que la unión entre el ligando y la actividad enzimática se produce en la misma proteína, y no a través de proteínas G. El aumento de GMPc intracelular activa una proteína kinasa dependiente de GMPc que fosforila determinados residuos de serina o treonina de las proteínas diana. Se conocen dos ligandos: los péptidos natriuréticos atriales y la guanilina.

Los péptidos natriuréticos atriales son una familia de hormonas peptídicas que regulan la presión sanguínea. Son producidos por células musculares de las aurículas del corazón cuando éstas se ensanchan por un incremento de la presión sanguínea. En el riñón y en las células musculares de las paredes de los vasos sanguíneos, estos péptidos se unen a su receptor guanilato ciclasa. En el primer caso, estimulan a las células de los conductos colectores del riñón a que excreten Na^+ y agua. La pérdida de agua reduce el volumen sanguíneo, contrarrestando la presión sanguínea. En el segundo, aumenta la relajación de las paredes de los vasos sanguíneos. Ambos efectos disminuyen la presión sanguínea.

La guanilina es un péptido intestinal que regula la secreción de Cl^- en las células del epitelio intestinal. Su receptor es también la diana de una endotoxina peptídica termoestable producida por *E. coli* y otras bacterias Gram-negativas. La endotoxina activa el receptor de la guanilina, provocando la excreción de Cl^- y disminuyendo la reabsorción de agua, con la consecuente diarrea.

5.3.2. Receptores tirosina kinasa

Son muchos los receptores que pertenecen a esta familia, entre ellos, factores de crecimiento y hormonas apeptídicas como, por ejemplo, el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), el factor de crecimiento-1 análogo a la insulina (IGF-I), el factor de crecimiento neuronal (NGF), el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y la insulina. En todos los casos, son proteínas receptoras que presentan actividad tirosina kinasa específica, es decir, añaden fosfato, usando ATP, a residuos de tirosina de proteínas diana concretas. La primera proteína tirosina kinasa fue descubierta en 1980

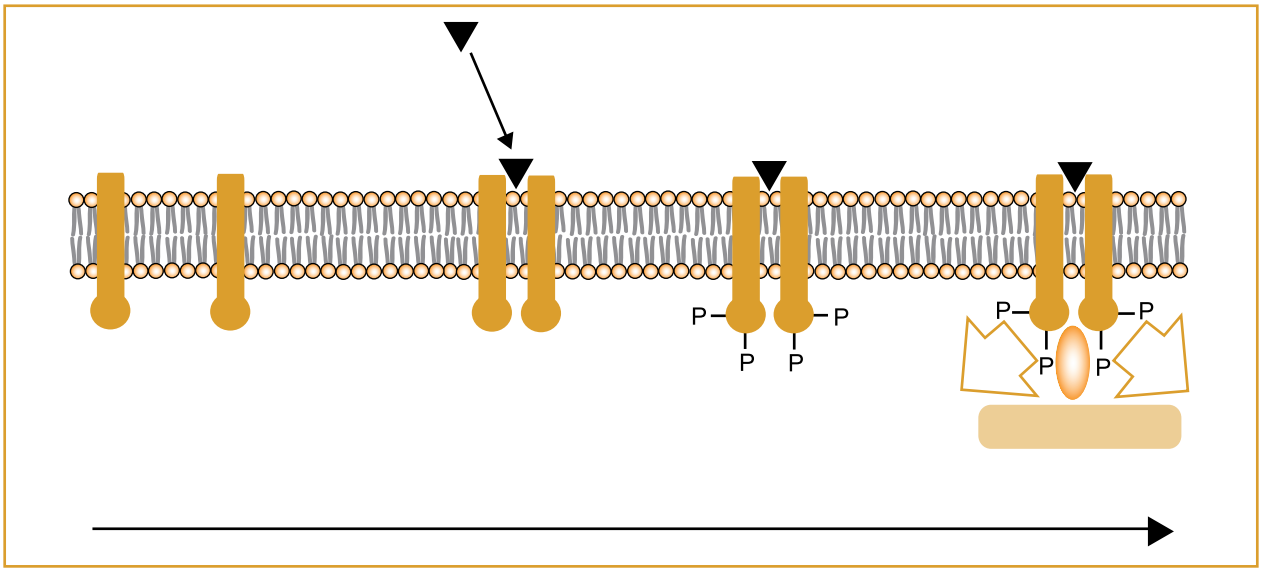


Figura 12. *Autofosforilación de un receptor tras unir su ligando y ensamblaje de complejo multiproteico de señalización intracelular.*

por Tony Hunter y Bartholomew Sefton al estudiar las proteínas oncogénicas de los virus causantes de tumores en animales, concretamente el virus del sarcoma de Rous. Igualmente, Stanley Cohen *et al.* encontraron que el receptor del EGF actuaba como una proteína tirosina kinasa, estableciendo así que la fosforilación de las tirosinas de la proteína era un mecanismo de señalización esencial en la respuesta celular a la estimulación por factores de crecimiento.

Estos receptores se caracterizan por que la unión del ligando provoca la **autofosforilación** del dominio citoplásmico del receptor, que estimula la actividad proteína kinasa del propio receptor y provoca el ensamblaje de un elaborado complejo de señalización intracelular (formado por un total de 10-20 proteínas intracelulares) sobre la cola del receptor **(Figura 12)**. Este proceso puede ocurrir de dos formas:

a) El ligando hace que el receptor se dimerice, es decir, que se unan dos moléculas de receptor, cuyos dominios citoplásmicos se fosforilan de forma cruzada sobre varios residuos de tirosina. Es el mecanismo del receptor para EGF (EGF-R) y de la mayoría de este tipo de receptores. En estos casos, las regiones autofosforiladas del receptor se utilizan como lugares de unión de alta afinidad para proteínas señal intracelulares. Cada una de estas proteínas se une al receptor autofosforilado y, en muchos casos, resultan fosforiladas en residuos de tirosina, activándose. De esta forma, la autofosforilación del receptor actúa como un interruptor que desencadena el ensamblaje transitorio con otras proteínas intracelulares y la señalización intracelular.

b) El receptor es un tetrámero unido mediante puentes disulfuro (caso del receptor de insulina y de IGF-I). El ligando no induce la dimerización del receptor, sino la interacción alostérica entre las dos unidades del receptor. Esta interacción hace que el receptor autofosforile su dominio enzimático intracelular, que une y fosforila otra proteína (sustrato-1 del receptor de insulina o IRS-I). Los residuos de tirosina fosfato en IRS-I son lugares de alta afinidad para el acoplamiento y activación de proteínas intracelulares.

La autofosforilación del dominio enzimático intracelular de los diferentes receptores tirosina kinasa reclutan diferentes colecciones de **proteínas adaptadoras** de señalización intracelular. Estas proteínas son funcional y estructuralmente muy variadas pero comparten la posesión de dos dominios no catalíticos altamente conservados, denominados SH2 y SH3, por regiones homólogas Src2 y Src3 (Src alude a la proteína Src del sarcoma de Rous). Los dominios SH2 se componen de 100 aminoácidos aproximadamente, y se unen a cortas secuencias peptídicas específicas que contienen residuos de fosfotirosina. La asociación de las proteínas con dominios SH2 con los receptores proteína

tirosina kinasa activados tiene varios efectos: sitúa a las proteínas con dominios SH2 junto a la membrana plasmática, permite su interacción con otras proteínas, promueve su fosforilación y estimula su actividad enzimática. Por lo tanto, la asociación de estas proteínas con los receptores autofosforilados supone el primer paso en la transmisión intracelular de señales, que comenzó con la unión de los factores de crecimiento a la superficie celular. En el caso del dominio SH3, su función es menos clara pero parece ser que sirve de puente de unión a otras proteínas celulares. En cualquier caso, ambos dominios son esenciales en las proteínas adaptadoras, pues su mutación produce el bloqueo de la señalización celular.

5.3.3. Receptores asociados a tirosina kinasas

Muchas de las proteínas receptoras de la superficie celular que han sido aisladas y caracterizadas no encajan en ninguna de las familias principales de receptores que se han descrito hasta aquí: no están asociadas a canales iónicos ni a proteínas G, y carecen de dominio catalítico evidente. Al igual que los receptores tirosina kinasa, éstos están constituidos por un dominio N-terminal, extracelular, de unión a ligando, una única hélice α-transmembrana, y un dominio C-terminal citosólico. Estos receptores, en vez de tener ellos mismos la actividad tirosina kinasa, dependen de la actividad tirosina kinasa de proteínas citoplásmicas con las que se asocian, es decir, actúan estimulando enzimas tirosina kinasa intracelulares a las que no están unidas covalentemente. Este gran y heterogéneo surtido de receptores incluye receptores para la mayoría de los mediadores locales (denominados **"citokinas"**) que regulan la proliferación y diferenciación en el sistema hematopoyético, para algunas hormonas (p. ej., hormona de crecimiento y prolactina) y para proteínas de la matriz extracelular. Estos receptores están asociados a una proteína tirosina kinasa de alguna de las siguientes tres familias:

a) La familia Src de kinasas no receptoras que incluye las proteínas Src, Yes, Fgr, Fyn, Lck, Lyn, Hck y Blk. Estas tirosina kinasas contienen dominios SH2 y SH3 y todas ellas se hallan localizadas en la cara citoplásmica de la membrana plasmática, unidas a ella en parte a través de su interacción con proteínas receptoras transmembrana y en parte por su unión covalente a cadenas lipídicas. Varios miembros de la familia se hallan asociados con diferentes receptores y fosforilan de forma solapada distintos juegos de proteínas diana; por ejemplo, Lyn, Fyn y Lck se hallan asociadas a diferentes juegos de receptores en los linfocitos. Todos los miembros de la familia Src tirosina kinasa se activan cuando un ligando extracelular se une a una proteína receptora adecuada.

b) La tirosina kinasa de adhesión focal (FAK) que se asocia a las integrinas, una familia de receptores (constituida por dos subunidades α y β) que emplean las células para unirse a la matriz proteica extracelular y responder a ella. Las integrinas actúan de puente de unión entre la matriz extracelular y los filamentos de actina que forman el esqueleto celular. Además, esta unión puede activar vías de señalización que alteran el comportamiento celular. La unión de FAK a la subunidad β de la integrina provoca su autofosforilación, recluta proteínas de la familia Src de tirosina kinasas, que continúan fosforilando residuos de tirosina y transmiten el mensaje al interior celular. De esta forma, la célula se adhiere a un sustrato adecuado, donde puede sobrevivir, crecer, dividirse o migrar.

c) La familia de tirosina kinasas Janus, o familia JAK, que están asociadas de forma estable a los receptores para más de 30 citokinas y algunas hormonas. La unión de la citokina activa la tirosina kinasa Jak que fosforila y activa una proteína STAT (proteína transductora y activadora de la transcripción), que migra de la membrana plasmática al núcleo, donde estimula la transcripción de genes específicos. Existen 4 proteínas Jak (Jak1, Jak2, Jak3 y Tyk2) que poseen dominios SH2 y se asocian en parejas a los distintos receptores de citokinas. Por ejemplo, el receptor del interferón-α se asocia con Jak1 y Tyk2 mientras que el del interferón-γ se asocia con Jak1 y Jak2. Por otro lado, existen siete tipos de proteínas STAT. La proteína STAT5 activada es la encargada de estimular la transcricpión de los genes que codifican proteínas de la leche en las células de la glándula mamaria en respuesta a la hormona prolactina.

5.3.4. Receptores asociados a tirosina fosfatasas

Del mismo modo que los residuos de tirosina son fosforilados por las tirosina kinasas, estos resi-

duos pierden el grupo fosfato por las enzimas tirosina fosfatasas. Las tirosina fosfatasas actúan pues como reguladores negativos en las vías de señalización celular, ya que se encargan de interrumpir las señales que se activaron a partir de la fosforilación de las proteína tirosinas (si la fosforilación activa, la desfosforilación inactiva). Estas fosfatasas se encuentran tanto en formas solubles citoplásmicas como unidas a membrana, y su elevada especificidad asegura que las fosforilaciones en tirosina tengan una vida media muy corta y que el nivel de fosforilación en tirosinas que presentan las células en reposo sea muy bajo.

No obstante, las proteínas tirosina fosfatasas no actúan simplemente revirtiendo continuamente el efecto de las tirosina kinasas, sino que pueden estar reguladas y desempeñar funciones específicas en la señalización celular, así como en el control del ciclo celular. Un buen ejemplo de esto último lo proporciona el receptor denominado CD45, que se expresa en la superficie de los linfocitos B y T. CD45 es una glicoproteína que atraviesa la membrana una sola vez, cuyo dominio tirosina fosfatasa se halla expuesto sobre la cara citoplásmica de la membrana plasmática. Cuando se activa por la reacción de un anticuerpo extracelular (su ligando normal no es conocido), su dominio catalítico se activa eliminando grupos fosfato de residuos de tirosina de determinadas proteínas diana de la célula. Se cree que una de estas proteínas es la tirosina kinasa Lck mencionada anteriormente. Cuando es desfosforilada por CD45, Lck se activa fosforilando otras proteínas de la célula.

5.3.5. Receptores serina/treonina kinasa

Junto con las activinas y las proteínas de morfogénesis del hueso, los factores-β transformantes del crecimiento (TGF-β) constituyen una superfamilia de mediadores locales que regulan la proliferación, la diferenciación, la muerte celular, estimulan la síntesis de matriz extracelular, estimulan la formación del hueso y atraen células por quimiotaxis. Todas estas proteínas actúan a través de receptores que fosforilan residuos de serina o treonina de sus proteínas diana, en vez de restos de tirosina. Existen dos tipos de receptores serina/treonina kinasa denominados tipo I y tipo II. Cada miembro de la superfamilia TGF-β se une a una combinación específica de receptores tipo I y tipo II (*ver Capítulo 1.4*).

5.4. Receptores que dependen de proteólisis regulada

La necesidad de variaciones en las formas de comunicación celular es enorme y los organismos superiores han desarrollado variantes de comunicación basadas en sistemas que dependen en todo o en parte de la proteólisis regulada de sus componentes. Son sistemas muy conservados en la evolución y esenciales para el desarrollo tisular en el embrión y el adulto, y para el control de procesos celulares centrales como la apoptosis. Son los sistemas más recientemente descubiertos en los que o el receptor o una de las proteínas de la cascada intracelular sufre un proceso de proteólisis (vía NF-κB, receptor Notch). Por ejemplo, la citokina factor de necrosis tumoral (TNF) induce la muerte celular, quizás como un mecanismo de eliminar de los tejidos células excedentes o deterioradas. Los receptores del TNF y de otras moléculas relacionadas, señalizadoras de muerte celular, se asocian a proteasas específicas, que son activadas en respuesta a la unión del ligando. La activación de estas proteasas asociadas a receptor dispara la activación de proteasas posteriores, lo que lleva, en última instancia, a la degradación de varios tipos de proteínas intracelulares y a la muerte de la célula. Entre estas proteasas, las caspasas juegan un papel central en la apoptosis (*ver Capítulo 1.32*).

6. Vías de señalización celular

Las señales recibidas en la superficie de la célula diana son transmitidas al interior celular mediante una combinación de moléculas señalizadoras intracelulares. La cadena resultante de sucesos intracelulares modifica en última instancia la actividad de proteínas diana intracelulares que son las responsables de modificar el comportamiento celular.

Como ya se indicó anteriormente, los mediadores intracelulares son los segundos mensajeros. Son un grupo de compuestos químicos generados en grandes cantidades en respuesta a la activación del recep-

tor, difundiendo rápidamente desde su fuente a otras partes de la célula. Algunas, como AMPc, Ca^{2+} o IP_3, son hidrosolubles y difunden por el citosol, mientras que otras, como DAG, son liposolubles y difunden en el plano de la membrana plasmática. En cualquier caso, transmiten la señal uniéndose a proteínas diana, alterando su comportamiento enzimático.

Sin embargo, el grupo más numeroso y variado de mediadores intracelulares lo forman proteínas. Muchas de ellas transmiten la señal al interior celular activando a la siguiente proteína de la cascada o generando mediadores intracelulares. En muchos casos, estas proteínas se comportan como interruptores moleculares porque están presentes en dos estados enzimáticos: activas ("encendidas") o inactivas ("apagadas"). Existen dos formas de provocar este cambio de situación.

En el primero, suele regularse, mediante fosforilación, la adición de un grupo fosfato a un residuo de serina, treonina o tirosina de la proteína. La proteína que añade este fosfato a otra se denomina proteína kinasa. Las cadena de activación sucesiva y ordenada de proteínas está organizada como una cascada de fosforilaciones.

En el segundo, la proteína es activa cuando une GTP e inactiva si une GDP.

Todas las proteínas mediadoras de señal se pueden clasificar según su función en la cadena de transmisión de señales intracelular **(Figura 13)**:

1. Proteínas transmisoras: se limitan a pasar el mensaje de una proteína a otra.

2. Proteínas mensajeras: llevan el mensaje de una parte de la célula a otra.

3. Proteínas adaptadoras: sin ser ellas modificadas por el mensaje, unen una proteína con otra.

4. Proteínas amplificadoras: son canales iónicos o enzimas que aumentan la señal que reciben, o produciendo una gran cantidad de mediador intracelular, o activando grandes cantidades de proteínas señalizadoras de la cadena de transmisión. Cuando existen varios pasos de amplificación de la señal, a esta cadena se la llama cascada intracelular de señalización.

5. Proteínas transductoras: transforman la señal de una forma química a otra.

6. Proteínas bifurcadoras: distribuyen la señal entre diferentes rutas.

7. Proteínas integradoras: reciben señales de una o más rutas, integrándolas y remitiéndolas a otra de la cadena.

8. Proteínas moduladoras: modifican la actividad de proteínas de la cadena de señalización, regulando la intensidad de la transmisión.

9. Proteínas gancho o de anclaje: sitúan proteínas de la cascada en localizaciones celulares concretas.

10. Proteínas latentes reguladoras de genes: son activadas en la superficie celular de donde migran al núcleo y estimulan la transcripción de genes.

6.1. Vía de señalización por hormonas

Como ya se ha comentado, todas las moléculas señalizadoras actúan mediante la unión a receptores que son expresados por las células diana. En muchos casos, estos receptores se expresan en la superficie de la célula diana, pero otros receptores son proteínas intracelulares que se localizan en el citosol o en el núcleo. Estos receptores intracelulares interaccionan con moléculas señalizadoras pequeñas e hidrofóbicas que son capaces de difundir a través de la membrana plasmática. Las hormonas esteroideas son el típico ejemplo de este tipo de moléculas señalizadoras, entre las que también se incluyen la hormona tiroidea, la vitamina D_3, y el ácido retinoico.

Estos receptores, que son miembros de una familia de proteínas denominada superfamilia de receptores nucleares, son proteínas con actividad de factor de transcripción. Estructuralmente, están formadas por cuatro dominios **(Figura 14)**:

1. Dominio modulador de la transcripción (A/B).
2. Dominio de unión al DNA (C).
3. Dominio puente (D).
4. Dominio de unión al ligando (E).

En algunos casos, la secuencia de la proteína se extiende más allá del dominio de unión al ligando (F). Estos receptores se pueden unir al DNA como monómeros, homo o heterodímeros.

Esta familia numerosa de receptores incluye también algunos cuyo ligando son metabolitos celulares y no señales extracelulares. La secuenciación completa de los genomas ha identificado numerosos miembros de esta familia para los que se desconoce el ligando y su efecto biológico. Son los receptores nucleares huérfanos. La unión al ligando regula su función como activadores o represores de sus genes diana, por lo que las hormonas

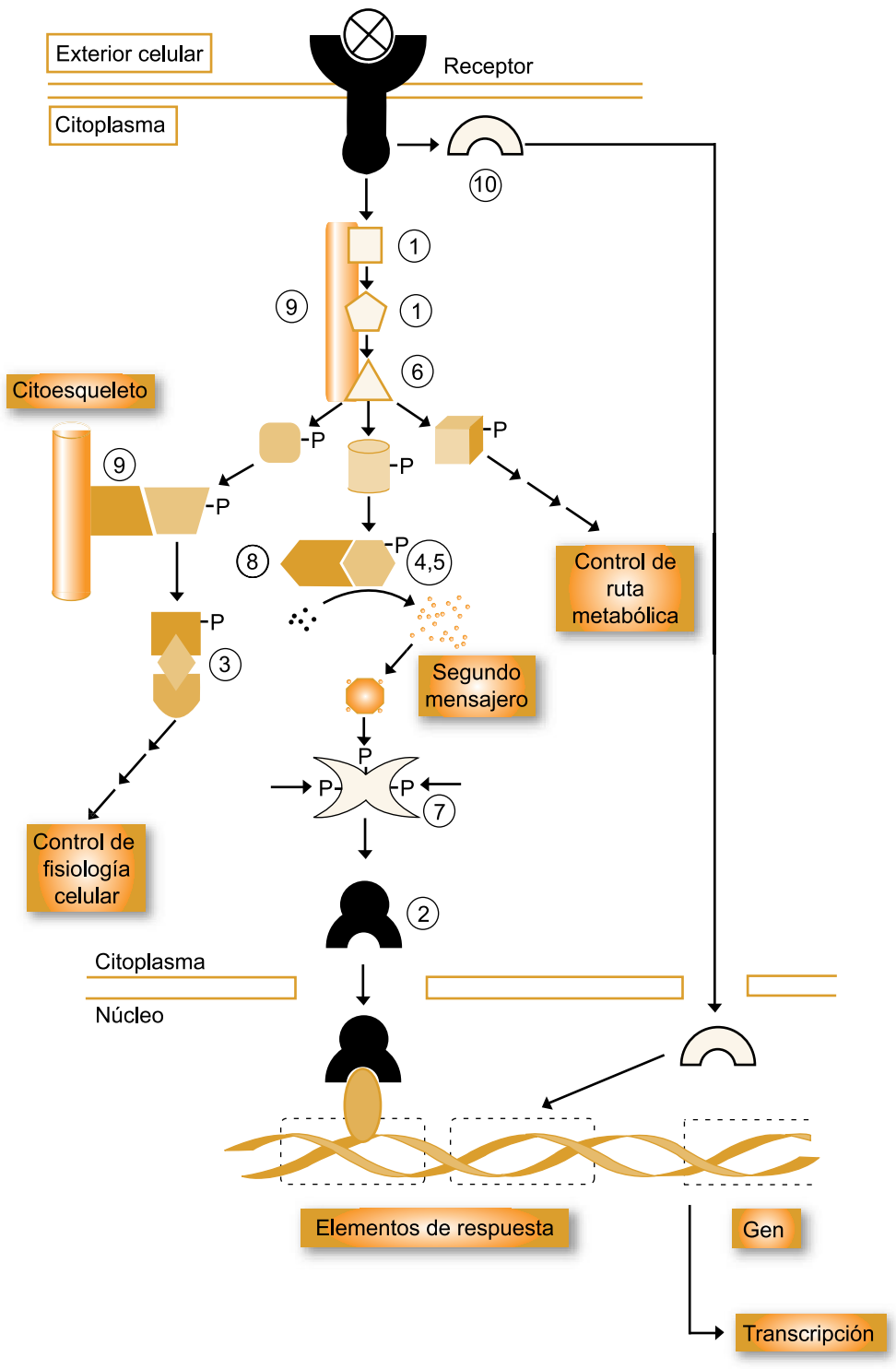


Figura 13. *Representación de los distintos tipos de proteínas intracelulares que intervienen en una ruta de señalización desde la membrana hasta el núcleo celular.*

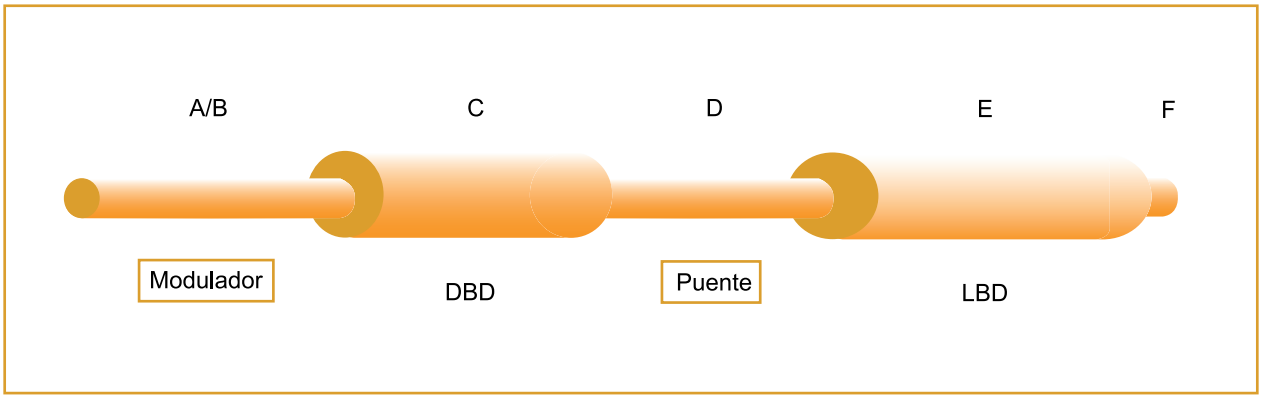


Figura 14. *Esquema de los dominios funcionales en un receptor intracelular.*

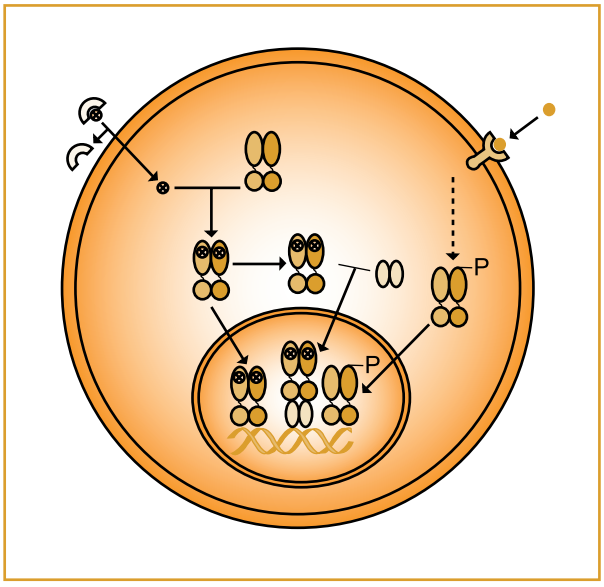


Figura 15. *Mecanismo de señalización intracelular mediante receptores intracelulares.*

esteroideas y moléculas relacionadas son reguladores directos de la expresión génica. Además, estos complejos receptoresteroide también pueden afectar a la estabilidad de determinados UNAM.

La unión del ligando tiene efectos distintos según los diferentes receptores. Actualmente, se conoce que la actividad de los receptores nucleares puede controlarse por tres mecanismos diferentes, de forma única o compartiendo mecanismos **(Figura 15)**:

- La unión del ligando hidrofóbico por el receptor lo activa.
- El receptor es activado por fosforilación.
- El receptor actúa mediante contacto con otra proteína factor de transcripción.

La unión de la hormona induce un cambio conformacional en el receptor que le permite unirse a secuencias reguladoras en el DNA (llamadas elementos de respuesta a hormonas) adyacentes a los genes que regula el ligando. La secuencia de este elemento para los receptores de esteroides es AGAACA, mientras que para los de estrógenos es AGGTCA. La unión del receptor al DNA altera la transcripción de los genes diana, es decir, si el promotor de un gen contiene el elemento de respuesta a esteroides, la transcripción de dicho gen estará regulada por esas hormonas.

No obstante, en otros casos, el receptor une su elemento de respuesta en el promotor tanto en ausencia como en presencia de la hormona, pero la unión de la hormona altera la actividad del receptor como molécula reguladora de la transcripción. Por ejemplo, el receptor de la hormona tiroidea actúa como represor en ausencia de la hormona, pero la unión de ésta lo convierte en un activador que estimula la transcripción de los genes inducibles por la hormona tiroidea. Algunos miembros de la superfamilia de receptores nucleares, como el receptor de estrógenos y el receptor de glucocorticoides, son incapaces de unirse al DNA en ausencia de la hormona. El receptor del cortisol está en el citoplasma y tras unirse al cortisol se dirige al núcleo.

La respuesta transcripcional transcurre generalmente en pasos sucesivos. La unión del receptor al ligando activa la transcripción de genes específicos en aproximadamente 30 minutos y constituye la **respuesta primaria**. Los productos proteicos de estos genes activan a su vez a otros genes de **respuesta secundaria**, cuyos productos proteicos activan a otros, y así sucesivamente. De es-

ta forma, una hormona puede cambiar por completo el patrón de expresión de genes celular. En todos los casos, se requiere de un periodo de horas o días para que estos reguladores ejerzan su efecto completo, es decir, el tiempo requerido para que los cambios en la síntesis de UNAM y la consiguiente síntesis de proteínas sean evidentes y alteren el metabolismo celular.

La respuesta celular a hormonas depende de la hormona y también del tipo de célula en el que actúa. Muchos tipos de células poseen el receptor para la hormona, pero los genes regulados son distintos en cada tipo celular. Esto se debe a que la transcripción de cada gen está sujeta a regulación por múltiples proteínas factores de transcripción. Por ello, un receptor nuclear unido a su hormona sólo activa la transcripción de un gen si está presente la **combinación** correcta de otras proteínas reguladoras, y muchos de ellos son específicos del tipo celular.

El papel esencial de los receptores de las hormonas esteroideas queda ilustrado por las drásticas consecuencias que tiene la ausencia del receptor de testosterona en humanos. La hormona masculina actúa en el feto y en la pubertad como señal de desarrollo de los caracteres secundarios de los varones. Algunos individuos carecen del receptor por una mutación en el gen correspondiente. La consecuencia es que a pesar de sintetizar testosterona sus células no pueden responder y se desarrollan externamente como mujeres. La especificidad de la interacción receptoresteroide se aplica en el uso del fármaco tamoxifeno. En algunos tipos de cáncer (cáncer de mama, p. ej.), la división celular depende de la presencia continua de la hormona estrogénica. El tamoxifeno compite con el estrógeno en la unión al receptor de estrógeno y la unión tamoxifeno-receptor no tiene efecto sobre la división celular. El tamoxifeno es un antagonista del estrógeno. El fármaco RU486 es antagonista de la progesterona y se usa para terminar embarazos prematuros.

6.2. Vía de señalización celular de AMPc

Como se ha indicado previamente, la señalización celular es un proceso específico y secuencial que va desde la liberación del ligando (hormona, factor de crecimiento, neurotransmisor, citokina o gas) en respuesta a una señal hasta que éste llega a la célula diana, donde provoca una respuesta celular acorde. Algunos de éstos ligandos, como la adrenalina, interaccionan con receptores en la superficie celular que emplean el AMPc como segundo mensajero.

La señalización intracelular se puso de manifiesto por primera vez al estudiar la acción de la adrenalina, que causa la hidrólisis del glucógeno a glucosa previa a la actividad muscular. En 1958, Earl Sutherland descubrió que la acción de la adrenalina era mediada por un aumento en la concentración intracelular de AMPc, lo que llevó a la idea de que el AMPc es un segundo mensajero de la señalización hormonal. El AMPc se forma a partir del ATP por la acción de la adenilato ciclasa y es degradado a AMP por la fosfodiesterasa de AMPc, que está activa continuamente.

¿Qué mecanismo intracelular emplea el AMPc para provocar la rotura del glucógeno en respuesta a la adrenalina, por ejemplo? La adrenalina media la respuesta celular a través de cuatro tipos de receptores adrenérgicos ($\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$). Los receptores β-adrenérgicos fueron los primeros receptores celulares asociados a proteína G descritos, que están distribuidos en las células musculares, hepáticas y adiposas donde regulan la movilización de las grasas y la degradación del glucógeno.

La unión de la adrenalina al receptor β-adrenérgico promueve un cambio conformacional en su estructura **(Figura 16)**. Este cambio afecta a su interacción con la proteína G que es de tipo G_s, es decir, estimuladora de actividad, que intercambia la molécula de GDP que porta por una de GTP. La proteína G_s unida a GTP se disocia en sus subunidades (α, β, γ), de tal forma que la subunidad α_s unida a GTP se desplaza en el plano de la membrana hasta la molécula más cercana de adenilato ciclasa. La subunidad α_s se asocia con la adenilato ciclasa y estimula su actividad, que cataliza la síntesis de AMPc. La estimulación es transitoria hasta que la subunidad α_s se autodesconecta al convertir su GTP en GDP, se disocia de la adenilato ciclasa y la inactiva. Después, la subunidad α_s se reasocia con las subunidades β y γ, para regenerar la proteína G unida a GDP y estar de nuevo disponible para interaccionar con el receptor unido al ligando.

La consecuencia de la unión del ligando al receptor es que aumenta la concentración intra-

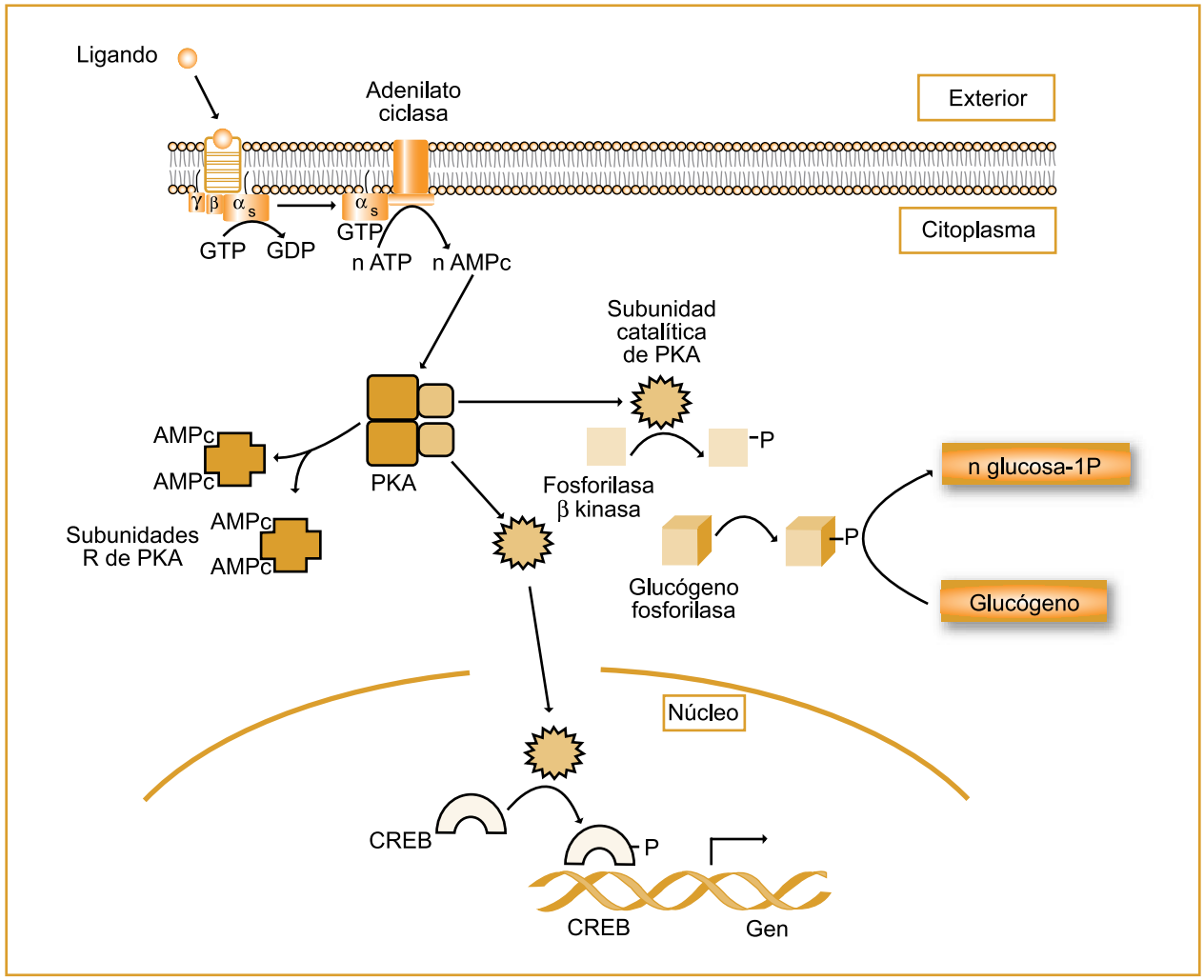


Figura 16. *Ruta de señalización mediante AMPc.*

celular de AMPc. La mayoría de los efectos del AMPc en la célula animal son mediados por la acción de la proteína kinasa dependiente de AMPc o proteína kinasa A (PKA), una enzima descubierta por Donald Walsh y Ed Krebs en 1968. Esta enzima es una fosforilasa de proteínas, es decir, une grupos fosfato a residuos de serina o treonina de proteínas intracelulares, cambiando su actividad. La forma inactiva de la PKA es un tetrámero constituido por dos subunidades catalíticas y dos subunidades reguladoras (R_2C_2). Este complejo es inactivo, pues cada subunidad R inhibe a cada subunidad C porque ocupa su sitio de unión al sustrato. Cuando el AMPc se une a las subunidades R, éstas experimentan un cambio conformacional que disocia el complejo R_2C_2, liberando las subunidades catalíticas. Las subunidades catalíticas libres son enzimáticamente activas y son capaces de fosforilar residuos de serina de sus proteínas diana.

En la regulación del metabolismo del glucógeno, la proteína kinasa A fosforila dos proteínas diana. La primera es otra proteína kinasa, la fosforilasa β kinasa, que es fosforilada y activada por la proteína kinasa A. La fosforilasa β kinasa, a su vez, fosforila y activa la glucógeno fosforilasa, que cataliza la rotura del glucógeno a glucosa-1-fosfato. Además, la proteína kinasa A fosforila la enzima glucógeno sintetasa, inactivando la síntesis de glucógeno.

Por lo tanto, el incremento del (AMPc) y la activación de PKA bloquea la síntesis de glucógeno a la vez que activa su hidrólisis para liberar glucosa de forma rápida, efectiva y cuantiosa. No son es-

Tabla 2. RESPUESTA METABÓLICA AL AUMENTO DE AMPc INTRACELULAR

Tejido	Hormona responsable	Respuesta metabólica
Hígado	Adrenalina Noradrenalina Glucagón	• Degradación de glucógeno • Inhibición de la captación de aminoácidos • Inhibición de la gluconeogénesis • Inhibición de la síntesis de glucógeno
Miocardio	Adrenalina	• Aumento de la contracción
Tiroides	TSH	• Secreción de tiroxina
Intestino	Adrenalina	• Secreción de fluidos
Riñón	Vasopresina	• Reabsorción de agua
Adiposo	Adrenalina ACTH Glucagón TSH	• Descenso de la captación de aminoácidos • Inhibición de hidrólisis de triglicéridos
Músculo esquelético	Adrenalina	• Degradación de glucógeno
Ovario	LH	• Secreción de progesterona
Hueso	Paratohormona	• Reabsorción de hueso

tas enzimas las únicas dianas de PKA; lo son también otras enzimas en otros contextos celulares y, a veces, en respuesta a hormonas distintas de adrenalina **(Tabla 2)**; por ejemplo, en adipocitos, el glucagón se une a su receptor que activa una proteína G_s activadora de adenilato ciclasa. El aumento de [AMPc] activa la PKA, que fosforila la triacilglicerol lipasa, activándola, y provocando la movilización de la grasa como nutriente energético celular.

En forma esquemática, el proceso de activación de la glucogenólisis por adrenalina quedaría expresado como **(Figura 16)**:

Adrenalina → receptor 7-TMS β-adrenérgico → proteína G activada → adenilato ciclasa activada → [AMPc] ↑ → PKA activada → fosforilasa β kinasa activada → glucógeno fosforilasa activada → liberación de glucosa

Otras hormonas actúan inhibiendo la adenilil ciclasa, disminuyendo los niveles de cAMP y suprimiendo la fosforilación de proteínas. Por ejemplo, la unión de la somatostatina a su receptor desencadena la activación de una proteína G inhibidora, o G_i, estructuralmente homóloga a G_s, que inhibe la adenilil ciclasa y disminuye la [cAMP]. La somatostatina, por lo tanto, contrarresta los efectos del glucagón. En el tejido adiposo, la prostaglandina E1 (PGE1) inhibe la adenilil ciclasa, disminuyendo así la [cAMP], y hace más lenta la movilización de las reservas lipídicas desencadenada por la adrenalina y el glucagón. En otros tejidos, la PGE1 estimula la síntesis de cAMP porque sus receptores están acoplados a la adenilil ciclasa a través de una proteína G estimuladora, G_s. En tejidos con receptores α_2-adrenérgicos, la adrenalina reduce la [cAMP] porque los receptores α_2 están acoplados a la adenilil ciclasa a través de una proteína G_i. Dicho en pocas palabras una señal extracelular tal como la adrena-

lina o la PGE1 puede tener efectos muy diferentes en los distintos tejidos o tipos celulares, dependiendo:

1. Del tipo de receptor.

2. Del tipo de proteína G (G_s o G_i) con la que se acopla el receptor.

3. Del grupo de enzimas diana de la PKA en la célula.

La cadena de reacciones que conduce desde el receptor de la adrenalina hasta la glucógeno fosforilasa proporciona un buen ejemplo de la amplificación de la señal durante la transducción de señales intracelular. Cada molécula de adrenalina activa un único receptor. Sin embargo, cada receptor puede activar hasta 100 moléculas de G_s. Cada molécula de G_s activa una adenilato ciclasa, que cataliza la síntesis de muchas moléculas de AMPc. La señal continúa amplificándose, puesto que cada molécula de proteína kinasa A fosforila muchas moléculas de fosforilasa kinasa, que, a su vez, fosforilan muchas moléculas de glucógeno fosforilasa. Por lo tanto, la unión de la hormona a un pequeño número de receptores da lugar a la activación de un número mucho mayor de enzimas diana intracelulares.

La actividad del AMPc como segundo mensajero no sólo se limita a modificar la actividad de enzimas intracelulares sino también a regular la transcripción de genes específicos. En muchas células animales, el aumento del AMPc activa la transcripción de unos genes diana específicos que contienen una secuencia reguladora denominada elemento de respuesta a AMPc, o CRE, en su promotor. En este caso, la señal desde el citoplasma al núcleo la lleva la subunidad catalítica de la PKA, que es capaz de entrar en el núcleo tras su desacoplamiento de la subunidad reguladora. En el núcleo, PKA fosforila un factor de transcripción denominado CREB (de proteína de unión a CRE), que se une al DNA en el promotor, lo que activa los genes inducidos por AMPc. Este tipo de regulación de la expresión génica por el AMPc desempeña un papel importante en el control de la proliferación, la supervivencia y la diferenciación de diversos tipos de células animales.

En forma esquemática, el proceso de control de la expresión génica por adrenalina quedaría expresado como **(Figura 16)**:

Hormona → receptor 7-TMS → proteína G activada → adenilato ciclasa activada → [AMPc] ↑ → PKA activada → CREB activada → transcripción génica activada

Es importante señalar que las proteína kinasas, como PKA, no son permanentes en la célula. Por el contrario, la fosforilación de las proteínas es revertida rápidamente por la acción de las proteína fosfatasas. Existen cuatro grupos de proteína fosfatasas: proteína fosfatasas I, IIA, IIB y IIC. Algunas proteínas fosfatasas son receptoras de membrana, como se dijo en la sección anterior. Otras son enzimas citosólicas que quitan grupos fosfato de restos fosforilados de tirosina o de serina/treonina de sus proteínas sustrato. Estas proteína fosfatasas sirven para finalizar la respuesta iniciada por la activación de las proteína kinasas mediada por receptor. Por ejemplo, los residuos de serina de las proteínas fosforilados por PKA suelen ser desfosforilados por la acción de la proteína fosfatasa I.

Por lo tanto, el grado de fosforilación que presentan los sustratos de la PKA (como la fosforilasa kinasa y el CREB) depende del equilibrio entre la actividad intracelular de PKA y de las proteína fosfatasas.

Aunque la mayor parte de los efectos de AMPc están mediados por PKA, el AMPc también puede regular directamente canales iónicos, independientemente de la fosforilación de las proteínas. El AMPc funciona de esta manera como un segundo mensajero en la detección de olores. Muchos de los receptores de las moléculas olorosas en las neuronas sensoriales de la nariz son receptores asociados a proteínas G que estimulan a la adenilato ciclasa, lo que genera un aumento del AMPc intracelular. En vez de activar a PKA, el AMPc en este sistema provoca la apertura de los canales de Na^+ en la membrana plasmática, lo que da lugar a la despolarización de la membrana y a la generación de un impulso nervioso.

6.2.1. *Fosfolípidos y Ca^{2+}*

Una de las vías de señalización intracelular más generalizadas **(Tabla 3)** se basa en la utilización de segundos mensajeros derivados del fosfolípido de membrana fosfatidil inositol 4,5-bisfosfato [$PI(4,5)P_2$]. El $PI(4,5)P_2$ es un componente minoritario de la membrana plasmática, que se localiza en la cara interna de la bicapa fosfolipídica. Diversidad de hormonas y factores de crecimiento a través de

Tabla 3. RESPUESTA METABÓLICA AL AUMENTO DE IP_3 Y EL SUBSIGUIENTE DE Ca^{2+} CITOSÓLICO EN VARIOS TEJIDOS

Tejido	Hormona responsable	Respuesta celular
Páncreas	Acetilcolina	Secreción de enzimas digestivas
Plaquetas	Trombina	Secreción de hormonas; agregación; cambio de forma
Células β del páncreas	Acetilcolina	Secreción de insulina
Hígado	Vasopresina	Degradación de glucógeno
Fibroblastos	PDGF	Proliferación celular
Estómago	Acetilcolina	Contracción

más de 25 receptores distintos inducen la hidrólisis del $PI(4,5)P_2$ por una fosfolipasa C específica de fosfoinositoles (PLC) -una reacción que da lugar a dos segundos mensajeros diferentes, el DAG y el IP_3- **(Figura 17)**. DAG e IP_3 activan vías de señalización intracelular diferentes (la proteína kinasa C y la movilización del Ca^{2+}, respectivamente), por lo que la hidrólisis del $PI(4,5)P_2$ dispara una doble cascada de señales intracelulares.

La PLC puede ser activada por dos caminos: mediante una proteína G o mediante una proteína tirosina kinasa. Esto se debe a que una isoforma de la fosfolipasa C (PLC-β) es activada por la proteína G, mientras que otra (PLC-γ) contiene dominios SH2 responsables de su asociación con receptores proteína-tirosina kinasas activados.

En el caso de PLC-β y proteína G, la cadena de acontecimientos que lleva a la rotura de $PI(4,5)P_2$ empieza con la unión de una molécula señal a un receptor unido a la proteína G de la membrana plasmática. Un receptor activado estimula una proteína G denominada Gq, la cual, a su vez, activa PLC-β. En el caso de PLC-γ y tirosina kinasa, la unión de la hormona al receptor estimula su actividad tirosina kinasa, se autofosforila, une PLC-γ, que es fosforilada y activada. En menos de un segundo, PLC-β o PLC-γ activas degradan el $PI(4,5)P_2$ generando dos productos: IP_3 y DAG. En este punto, el proceso de señalización se bifurca en dos ramas dependientes de cada molécula. Ambas juegan papeles cruciales en la señalización celular, por lo que se considerarán por separado.

6.2.2. *Fosfolipasa β, inositol trifosfato y Ca^{2+}*

Mientras que el DAG permanece asociado a la membrana plasmática, el IP_3 producido por la hidrólisis de $PI(4,5)P_2$ es una pequeña molécula polar que se libera de la membrana plasmática y difunde rápidamente por todo el citosol, donde interviene induciendo la liberación de Ca^{2+} del retículo endoplásmico (ER). La concentración de Ca^{2+} se mantiene en niveles extremadamente bajos (aprox. 0,1 µM) debido a la acción de las bombas de Ca^{2+} que expulsan el Ca^{2+} del interior celular por transporte activo. El Ca^{2+} no sólo se bombea a través de la membrana plasmática, sino también al ER, que sirve como un reservorio intracelular de Ca^{2+}. Allí, IP_3 libera Ca^{2+} del ER, uniéndose a canales liberadores de Ca^{2+} sensibles a IP_3 de la membrana del ER. Los canales están regulados por retroalimentación positiva, ya que el Ca^{2+} liberado puede unirse a los canales, incrementando aún más la liberación de Ca^{2+}. Ello hace que la liberación de Ca^{2+} ocurra

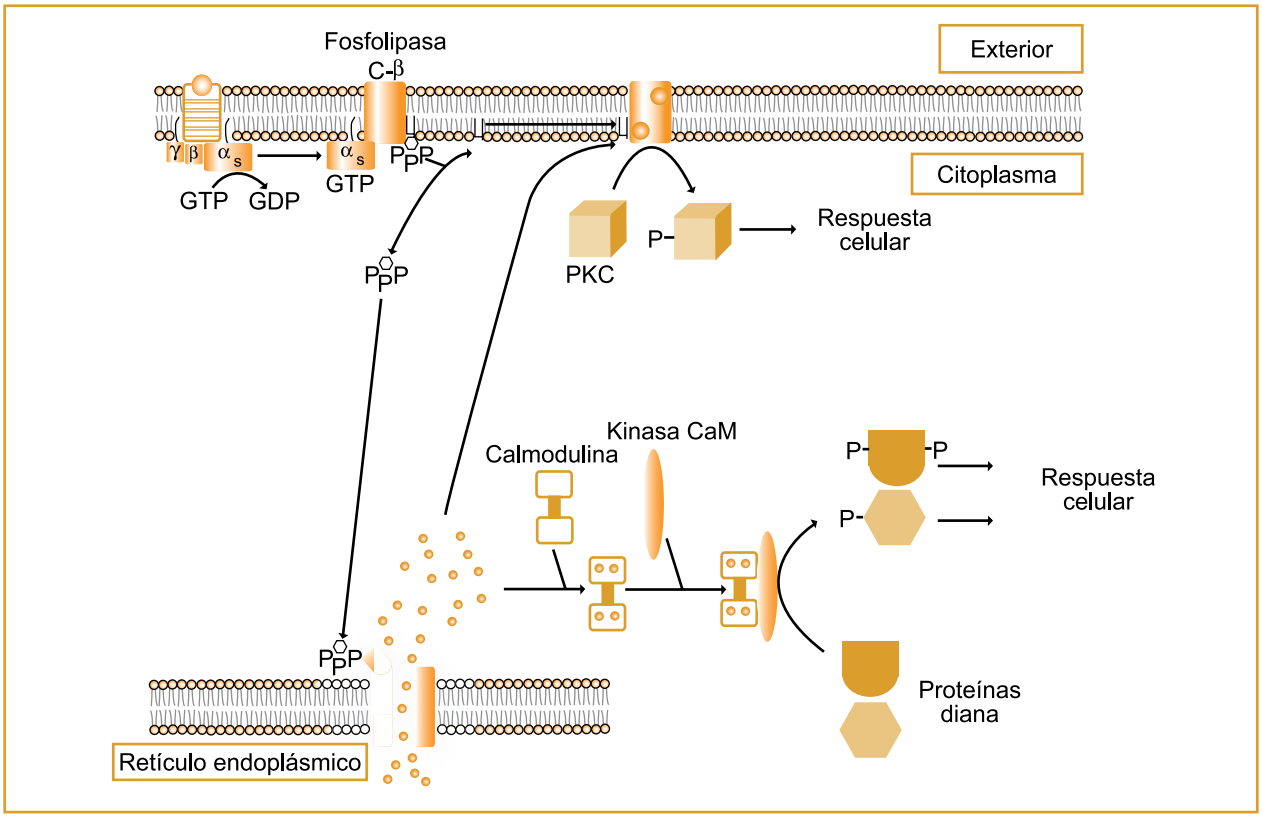


Figura 17. *Ruta de señalización mediante IP_3 y Ca^{2+}.*

de una manera repentina, tipo "todo o nada". Para acabar la respuesta inicial de Ca^{2+} actúan dos mecanismos:

1. El IP_3 es rápidamente desfosforilado (y así inactivado) mediante fosfatasas específicas.

2. El Ca^{2+} que entra en el citosol es rápidamente bombeado hacia el exterior, principalmente hacia el exterior de la célula.

Sin embargo, no todo el IP_3 es desfosforilado: algunas moléculas son fosforiladas hasta 1,3,4,5-tetraquisfosfato (IP_4), el cual puede mediar respuestas lentas pero más prolongadas en la célula o facilitar la recuperación de las reservas intracelulares de Ca^{2+} a partir del fluido extracelular. La enzima que cataliza la producción de IP_4 se activa por un incremento de la concentración citosólica de Ca^{2+} inducida por IP_3, lo cual constituye una forma de retroalimentación negativa de los niveles de IP_3. Los efectos de IP_3 pueden ser mimetizados utilizando un ionóforo de Ca^{2+}, como el A23187 o la ionomicina, los cuales permiten que el Ca^{2+} entre al citosol desde el líquido extracelular.

Habitualmente la concentración de Ca^{2+} libre en el citoplasma es < 10^{-7} M y generalmente no aumenta por encima de 6 x 10^{-6} M, incluso aunque la célula esté activada por un influjo de Ca^{2+}. Así, cualquiera que sea la estructura de la célula que actúe directamente como diana para la regulación dependiente de Ca^{2+} deberá tener una constante de afinidad (K_a) para el Ca^{2+} de unos 10^6 l/mol. Además, como la concentración de Mg^{2+} en el citosol es relativamente constante (alrededor de 10^{-3} M), estos lugares de unión al Ca^{2+} deberán presentar una selectividad para el Ca^{2+} sobre el Mg^{2+} de unas 1.000 veces como mínimo. Se conocen varias proteínas que unen Ca^{2+}, que cumplen estos requisitos.

La primera proteína de este tipo que se descubrió es la troponina C de las células del músculo esquelético. Se ha encontrado otra proteína que une Ca^{2+}, estrechamente relacionada con la troponina C, denominada calmodulina. Una célula animal típica contiene más de 10^7 moléculas de calmodulina, lo cual significa aproximadamente el 1% de la masa total de proteína de la célula. La calmodulina actúa

como un receptor intracelular polivalente de Ca^{2+} que media la mayoría de los procesos regulados por Ca^{2+}. Se trata de una cadena polipeptídica altamente conservada, de unos 150 residuos de aminoácido, con cuatro lugares de unión con una alta afinidad para el Ca^{2+}. Cuando une Ca^{2+}, la calmodulina sufre un importante cambio de conformación.

La activación alostérica de la calmodulina por el Ca^{2+} es análoga a la activación alostérica de PKA por el AMPc, con la diferencia de que el complejo Ca^{2+}-calmodulina no tiene actividad enzimática, sino que actúa uniéndose a otras proteínas. En algunos casos, la calmodulina actúa como una subunidad reguladora permanente de un complejo enzimático, pero en la mayoría de los casos la unión del Ca^{2+} induce a la calmodulina a unirse a varias proteínas diana de la célula, alterando su actividad.

De entre las proteínas diana reguladas por el complejo Ca^{2+}-calmodulina, varias de ellas son enzimas o proteínas de transporte a través de la membrana. En muchas células, por ejemplo, el complejo Ca^{2+}-calmodulina se une, activando la Ca^{2+}-ATPasa de la membrana plasmática, la cual bombea Ca^{2+} hacia el exterior de la célula. Así, si la concentración de Ca^{2+} en el citosol aumenta, la bomba se activa, lo cual contribuye a que los niveles citosólicos de Ca^{2+} vuelvan a los valores normales.

La mayoría de los efectos de Ca^{2+} en las células animales están mediados por fosforilaciones de proteínas catalizadas por una familia de proteína kinasas dependientes de Ca^{2+}-calmodulina (kinasas CaM). Estas kinasas fosforilan residuos de serina o de treonina de determinadas proteínas y, como en el caso del AMPc, la respuesta de una célula diana a un incremento de la concentración de Ca^{2+} libre en el citosol depende del tipo de kinasas CaM reguladas de que disponga la célula. Las primeras kinasas CaM que se descubrieron -la kinasa de la cadena ligera de la miosina, que activa la contracción del músculo liso, y la fosforilasa kinasa, que activa la degradación del glucógeno- presentan una especificidad de sustrato muy alta. Más recientemente, sin embargo, se han identificado algunas kinasas CaM con una especificidad más amplia, y que parecen ser las responsables de mediar muchas de las acciones del Ca^{2+} en las células animales.

El ejemplo mejor estudiado de una kinasa "multifuncional" Ca^{2+}-calmodulina es la kinasa-CaM II, que se encuentra en todas las células animales pero especialmente enriquecida en el sistema nervioso. Constituye hasta el 2% de la masa total de proteína en algunas regiones del cerebro, altamente concentradas en sinapsis. Por ejemplo, cuando las neuronas que utilizan catecolaminas (dopamina, noradrenalina o adrenalina) como neurotransmisores son activadas, el infujo de Ca^{2+} a través de canales de Ca^{2+} regulados en sus membranas plasmáticas induce a la célula a segregar su neurotransmisor. El influjo de Ca^{2+} también hace que la kinasa CaM II se fosforile, activándose, y activando la tirosina hidroxilasa, la cual es la enzima reguladora de flujo de la síntesis de catecolaminas. De esta forma, cuando la célula se activa, se estimula tanto la secreción como la síntesis del neurotransmisor.

La kinasa CaM II tiene una propiedad destacable: puede actuar como un dispositivo de memoria molecular, colocándose en un estado activo cuando es expuesta a Ca^{2+}-calmodulina y permaneciendo activa incluso después de que la concentración de Ca^{2+} haya bajado. Ello es debido a que la kinasa se autofosforila. En su estado autofosforilado, la enzima permanece activa en ausencia de Ca^{2+}, prolongando así la duración de la actividad de la kinasa después de que acabe la señal inicial activadora de Ca^{2+}. La actividad se mantiene hasta que las fosfatasas abaten la actividad autofosforilativa de la enzima, inhibiéndola.

Debido a estas propiedades, la activación de la kinasa CaM II puede ser utilizada como una memoria traza de un pulso de Ca^{2+} anterior, y al parecer juega un importante papel en algunos tipos de memoria y de aprendizaje del sistema nervioso de los vertebrados. Ratones mutantes que carecen de la subunidad específica del cerebro tienen defectos específicos en su capacidad de recordar la localización de un objeto -es decir, de aprendizaje espacial-.

En resumen, la cadena de acontecimientos intracelulares es **(Figura 17)**:

Hormona → receptor 7-TMS → proteína G activada → fosfolipasa C-β → IP_3 y DAG → IP_3 libera Ca^{2+} → Ca^{2+} une calmodulina → proteína kinasa CaM activada → fosforilación de proteínas diana

6.2.3. *Fosfolipasa β y diacilglicerol*

Al mismo tiempo que el IP_3 producido por la hidrólisis del $PI(4,5)P_2$ por PLC-β incrementa la con-

centración de Ca^{2+} en el citosol, el DAG coopera en la activación de una proteína serina/treonina kinasa que fosforila varias proteínas de la célula diana, denominada proteína kinasa C (PKC), debido a que es dependiente de Ca^{2+}. Se activa por la combinación de Ca^{2+}, DAG y el fosfolípido de membrana cargado negativamente, fosfatidilserina. De las ocho o más isoformas diferentes de la kinasa C en mamíferos, al menos cuatro son activadas por diacilglicerol.

Los efectos del DAG se pueden mimetizar por ésteres de forbol, productos vegetales que se unen a PKC y la activan directamente. Esta actividad inductora de tumores por parte de los ésteres de forbol se basa en su capacidad para activar la proteína kinasa C, actuando como análogos de DAG. Entonces, PKC activa otras dianas intracelulares, entre las que se incluye una cascada de proteína kinasas conocida como la vía de las MAP kinasas (que se tratará en detalle en el apartado siguiente), que conduce a la fosforilación de factores de transcripción, a variaciones en la expresión génica, y a la estimulación de la proliferación celular.

Como el DAG producido inicialmente por la rotura de PIP_2 es rápidamente metabolizado, no puede mantener la actividad de PKC como sería necesario para obtener respuestas mantenidas, como la proliferación o la diferenciación. La activación prolongada de PKC depende de una segunda ola de producción de diacilglicerol catalizada por fosfolipasas que rompen el fosfolípido principal de la membrana fosfatidilcolina. Se desconoce cómo resultan activadas estas fosfolipasas retrasadas.

Cuando la PKC es activada, fosforila residuos determinados de serina o de treonina de proteínas diana, las cuales varían en función del tipo de célula de que se trate. Las mayores concentraciones de kinasa C se han encontrado en el cerebro, donde (entre otras cosas) fosforila canales iónicos de las células nerviosas alterando sus propiedades y, por lo tanto, variando la excitabilidad de la membrana plasmática de las células nerviosas.

En muchas células la activación de PKC incrementa la transcripción de determinados genes. Se conocen por lo menos dos procesos. En uno de ellos, la PKC activa una cascada de proteínas kinasa que conduce a la fosforilación, y activación, de una proteína reguladora de genes unida a DNA; en el otro proceso, la activación de la PKC conduce a la fosforilación de una proteína inhibidora, liberando así una proteína citoplasmática reguladora de genes que puede migrar al núcleo y estimular la transcripción específica de determinados genes.

La cadena de reacciones intracelulares es **(Figura 17)**:

Hormona → receptor 7-TMS → proteína G activada → fosfolipasa C-β → IP_3 y DAG → DAG coactiva junto con Ca^{2+} a proteína kinasa C → activación de cascada de proteína kinasas y de transcripción de genes

6.3. Vía de Ras y kinasas MAP/ERK

La vía de las MAP kinasas se refiere a una cascada de proteína kinasas altamente conservada en la evolución que desempeña un papel central en la transducción de señales en todas las células eucariotas. Los elementos centrales de esta vía son una familia de proteínas GTPasas monoméricas de membrana y una familia de proteína-serina/treonina kinasas denominadas kinasas MAP o ERK (de proteína kinasas activadas por mitógenos o de kinasas reguladas por señales extracelulares).

Básicamente, en esta vía, la unión del ligando al receptor provoca la autofosforilación del receptor y lleva a la activación de una proteína de la familia Ras **(Figura 18)**. Esta proteína activada fosforila la primera de las proteínas kinasas intracelulares de la cascada de señalización, provocando la respuesta celular. En los organismos superiores, la vía de señalización que emplea proteínas Ras ayuda a enviar señales desde el exterior celular a otras partes de la célula donde se regula el crecimiento y la diferenciación celular mediante la alteración en la expresión de genes. El interés acerca de Ras creció considerablemente en 1982, cuando se implicaron por primera vez las mutaciones en el gen *Ras* con el desarrollo de cánceres humanos. La importancia de Ras en la señalización intracelular se puso de manifiesto mediante experimentos en los que se mostraba que la microinyección de la proteína Ras activa inducía la proliferación de las células sanas de mamíferos. Por otro lado, la interferencia con la función de Ras, bien por la microinyección de anticuerpos anti-Ras, o bien por la expresión de un mutante *Ras* negativo dominante, bloqueaba la

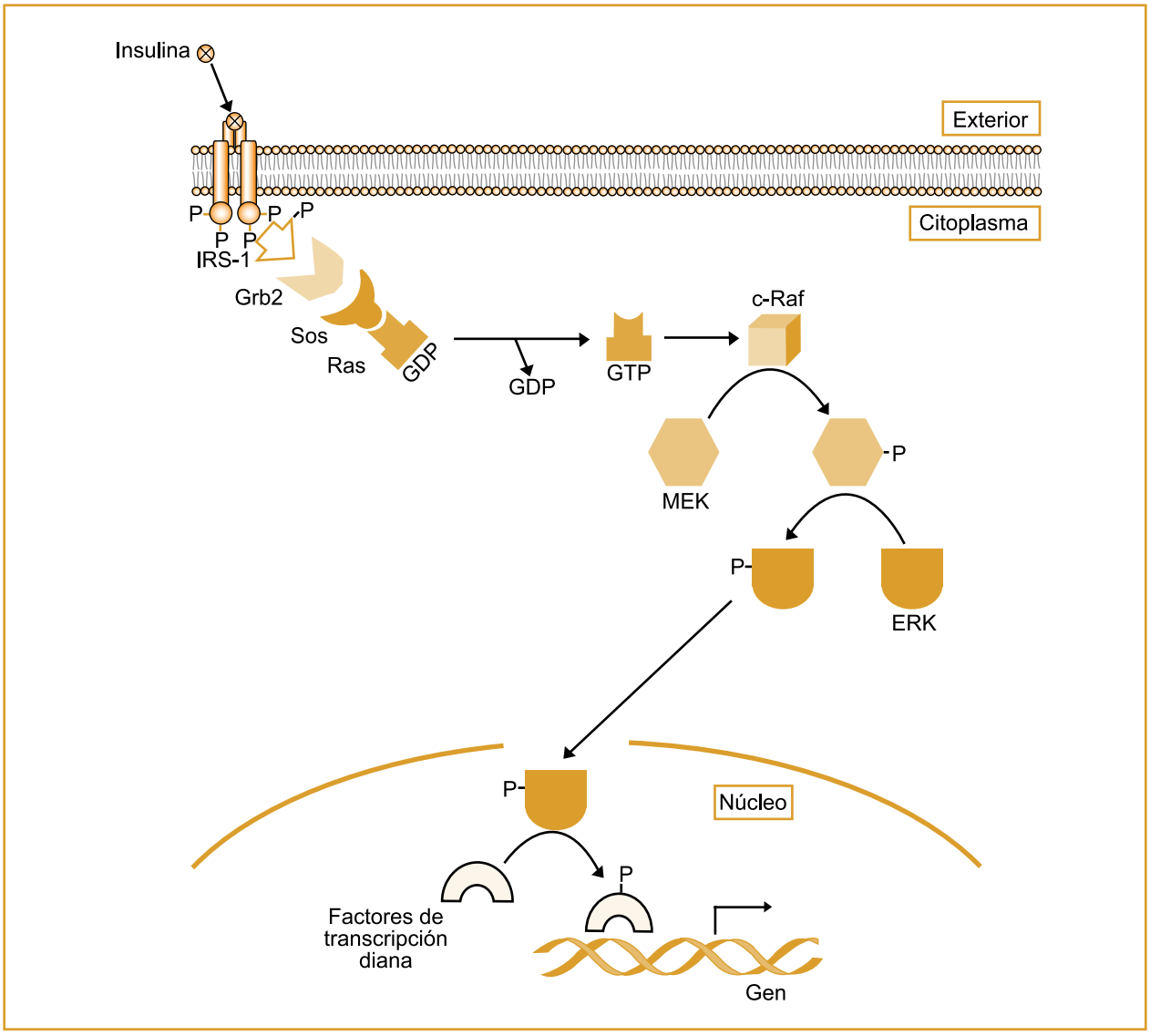


Figura 18. *Ruta de señalización de Ras y kinasas MAP/ERK.*

proliferación celular inducida por factores de crecimiento. Así, Ras no es solamente capaz de inducir el crecimiento anormal característico de las células cancerosas, sino que parece ser que se requiere en la respuesta de las células normales a la estimulación por los factores de crecimiento.

Las proteínas Ras son proteínas tipo de una gran familia de más de 50 proteínas relacionadas, denominadas proteínas pequeñas de unión a GTP, porque su tamaño es la mitad que el de la subunidad α de las proteínas G. Son monoméricas y tanto estructural como funcionalmente han sido muy conservadas durante la evolución. Según su función, esta superfamilia está subdividida en otras dos superfamilias:

1. La familia Rho, implicadas en la transmisión de señales desde receptores de la superficie celular hasta el citoesqueleto de actina.

2. La familia Rab, implicada en la regulación del tráfico del transporte intracelular de vesículas.

Como casi todas estas proteínas GTPasa monoméricas, las proteínas Ras contienen un grupo fenil, unido covalentemente, que participa en el anclaje de la proteína a la membrana, en este caso, a la cara citoplasmática de la membrana plasmática donde actúa esta proteína. Como las proteínas Ras

funcionan de una forma similar, en adelante se denominarán simplemente como Ras.

Las proteínas Ras actúan como interruptores, alternando entre dos estados conformacionales diferentes: activo cuando unen GTP, e inactivo cuando unen GDP. Ras hidroliza GTP al menos 100 veces más lentamente que la subunidad α de la proteína G trimérica estimuladora G_s, de la que se ha hablado anteriormente. La proteína Ras oscila entre sus dos estados (activo e inactivo) mediante la acción de dos tipos de proteínas **(Figura 18)**:

- Las proteínas activadoras de GTPasa (GAP) que incrementan la velocidad de hidrólisis del GTP unido a Ras, de forma que la inactiva.
- Las proteínas cambiadoras de nucleótidos de guanina (GEF), que estimulan el intercambio de GDP por GTP del citosol, activando la Ras.

El mecanismo de activación de Ras mejor comprendido es el mediado por los receptores proteína-tirosina kinasas. En principio, los receptores tirosina kinasa pueden activar Ras activando una proteína con actividad GEF o inhibiendo una proteína con actividad GAP. Los receptores tirosina kinasa activados se unen a GAP directamente, como se ha dicho antes, y se unen a GEF sólo indirectamente. Sin embargo, es la unión indirecta a GEF la que habitualmente es la responsable de conducir la proteína Ras a su estado activo, unido a GTP.

Como ya se ha indicado, la unión del ligando provoca la autofosforilación de estos receptores, que unen proteínas con dominios SH2. La proteína Ras no se une directamente al receptor sino a través del contacto con varias proteínas adaptadoras. Un ejemplo bien caracterizado lo proporciona la unión de la proteína adaptadora o puente Grb2 en el citosol de las células no estimuladas, a través del dominio SH2 de esta última. La fosforilación de las tirosinas de los receptores (o de otras proteínas asociadas a los receptores) genera un sitio de unión para los dominios SH2 de las proteínas Grb2. La unión de Grb2 con el receptor activado induce, a través de sus dominios SH3, la unión de una proteína tipo GEF, la proteína Sos, que es la que interacciona con las proteínas Ras. Sos, entonces, induce el intercambio de nucleótidos de guanina, lo que genera el complejo activo Ras-GTP. A veces, intervienen otro tipo de proteínas adaptadoras, como Shc o IRS-1. En el caso del receptor de la insulina, por ejemplo, la autofosforilación del receptor activa su dominio enzimático, que fosforila la proteína sustrato del receptor de la insulina (IRS-1). Ésta une la proteína Grb2 a través de sus dominios SH2; Grb-2 recluta Sos y ésta, finalmente, activa Ras al intercambiar su GDP por GTP. El papel de Grb-2 en este tipo de señalización es central, pues los ratones deficientes de este gen mueren temprano durante la embriogénesis.

En la forma activa unida a GTP, Ras interacciona con varias proteínas efectoras, entre las que se encuentra la proteína-serina/treonina kinasa Raf. Esta interacción con Ras hace que Raf pase de estar situado en el citosol a localizarse en la membrana plasmática, donde activa mediante fosforilación una kinasa MAP/ERK, denominada MEK o MAP-kinasa-kinasa-kinasa, la primera kinasa de la cascada. Una característica inusual de MEK es que es una proteína kinasa con especificidad doble, que activa miembros de la familia MAP/ERK fosforilando tanto residuos de treonina como de tirosina separados por un aminoácido (p. ej., treonina-183 y tirosina-185 de ERK2). Una vez activada MEK, ésta fosforila la segunda kinasa MAP/ERK (MAP-kinasa-kinasa) que, a su vez, fosforilan la tercera kinasa MAP/ERK (MAP-kinasa) que, finalmente, fosforila una diversidad de dianas, incluyendo otras proteína kinasas y factores de transcripción que regulan la proliferación celular, como las ciclinas G_1. Estas kinasas MAP/ERK actúan como un módulo de tres componentes que actúan en todas las células, donde al menos existen 5 módulos de kinasas MAP/ERK en cadena. Estos módulos se componen de 7 MAP-kinasa-kinasa-kinasas, 7 MAP-kinasa-kinasas y 12 MAP-kinasas. Varios de estos módulos son activados por distintos tipos de señales, como la radiación UV, el estrés térmico, el estrés osmótico y la estimulación de citokinas proinflamatorias.

La activación de MEK desempeña un papel central en la señalización de la proliferación celular inducida por factores de crecimiento. Ésta no es la única vía de activación mediante fosforilación de las kinasas MAP/ERK, ya que pueden ser fosforiladas por PKA (vía AMPc y proteínas G) y PKC (vía IP_3 y Ca^{2+}). La activación de la cascada MAP/ERK por PKC parece ser la responsable de la estimulación de la proliferación celular inducida por los promotores tumorales de ésteres de forbol. Además, tanto la vía del Ca^{2+} como la del AMPc interaccionan con la señalización mediante ERK, bien activando o bien inhibiendo la vía de ERK en función del tipo celular. Esto permite que la información sobre la proliferación/diferenciación celular generada por la interacción de varios factores de cre-

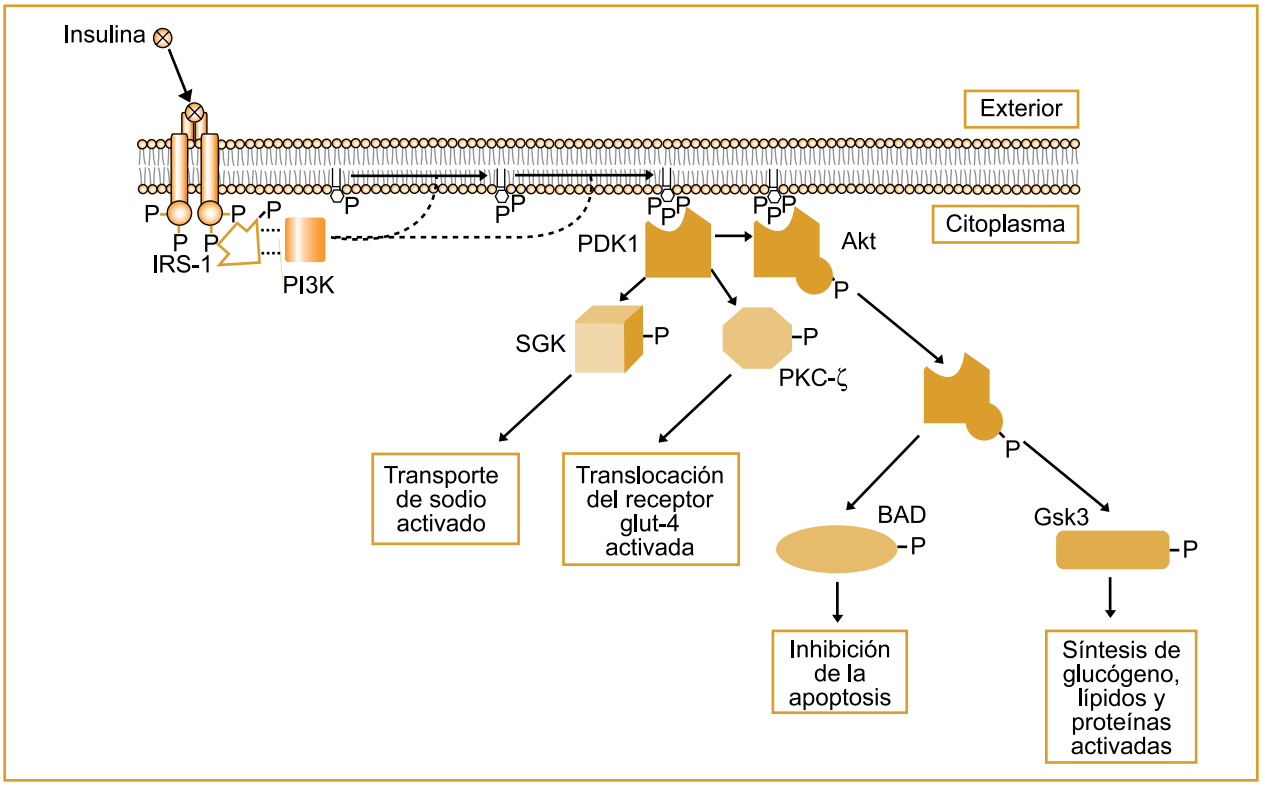


Figura 19. *Ruta de señalización de fosfatidilinositol-3-kinasa (PI3K).*

cimiento pueda ser integrada, interpretada correctamente y, en consecuencia, generar la respuesta celular. La paralización de la respuesta celular se realiza mediante la desfosforilación del residuo de treonina o de tirosina de las proteínas MAPK/ERK.

Es importante señalar que una fracción de las kinasas MAP/ERK activadas se trasloca al núcleo donde regula los factores de transcripción mediante fosforilación. En cuanto a esto, es importante señalar que una primera respuesta a la estimulación por factores de crecimiento es la inducción rápida de la transcripción de una familia de, aproximadamente, 100 genes denominados genes tempranos inmediatos. La inducción de determinados genes tempranos inmediatos está mediada por una secuencia reguladora, denominada elemento de respuesta al suero (SRE), que es reconocida por un complejo de factores de transcripción entre los que se incluye el factor de respuesta al suero (SRF) y Erk-1. MAP/ERK fosforila y activa Erk-1, lo que proporciona un enlace directo entre la familia de kinasas MAP/ERK y la inducción de genes tempranos inmediatos. Muchos genes tempranos inmediatos codifican factores de transcripción, por lo que su inducción en respuesta a factores de crecimiento altera la expresión de otra batería de genes posteriores, dando lugar a un nuevo programa de expresión génica. Si se toma como ejemplo la señalización de la insulina, de forma resumida se puede expresar como **(Figura 18)**:

Insulina → receptor tirosina kinasa → unión IRS-1 → fosforilación IRS-1 → complejo receptor-IRS-1P-Grb2 → complejo receptor–IRS-1P-Grb2-Sos → Sos genera Ras-GTP → Ras-GTP activa Raf → Raf fosforila kinasa MEK → MEK-P fosforila kinasa Erk → Erk-P fosforila factores de transcripción → alteración de la expresión génica

6.4. Vía de la fosfatidilinositol-3-kinasa (PI3K)

Además de la vía señalada anteriormente, la insulina emplea otro camino de señalización celular. El receptor de la insulina a través de IRS también activa la fosfatidilinositol-3-kinasa (PI3K), que juega un

papel central en la señalización de este receptor para el control del crecimiento celular **(Figura 19)**. Las células no sólo deben recibir información que estimule su división, sino también su crecimiento. Si no, las células, tras dividirse múltiples veces, serían progresivamente más pequeñas. Para ello, hormonas como la insulina estimulan la síntesis de proteínas, inhiben la lipólisis, activan la captación de glucosa y desactivan la apoptosis.

La enzima PI3K es la encargada de fosforilar en la posición 3 las distintas formas de fosfatidilinositol presentes en la membrana celular. Esta enzima genera nuevas formas fosforiladas de fosfatidilinositol: fosfatidilinositol-3-fosfato [PI(3)P], fosfatidilinositol-3,4-bisfosfato [$PI(3,4)P_2$], y fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato [$PI(3,4,5)P_3$]. Los dos últimos sirven como puntos de anclaje (no covalente) en la membrana para proteínas de señalización intracelular, juntándolas en complejos de señalización que responden a la señal extracelular y transmiten el mensaje al interior celular. Estas proteínas poseen un dominio de unión a $PI(3,4)P_2$ y $PI(3,4,5)P_3$ denominado dominio de homología *Pleckstrin* (PH, nombre de la primera proteína identificada con este dominio). Este dominio está presente en al menos 200 proteínas distintas, desde Sos a proteína kinasas como PDK1 o Akt. Para eliminar estos puntos de anclaje cuando es necesario, existe un grupo de enzimas encargadas de hidrolizar el enlace de fosfato en posición 3 (inositol fosfolípido fosfatasas, conocidas como PTEN) del anillo de inositol.

El mecanismo por el que PI3K señaliza el crecimiento celular es complejo y poco conocido. En el caso de la insulina, por ejemplo, la activación del receptor conduce a la fosforilación/activación de IRS. Ésta activa PI3K, que genera $PI(3,4)P_2$ y $PI(3,4,5)P_3$. Estos fosfatidilinositoles reclutan PDK1 y Akt. Ambas cambian su conformación, de tal forma que PDK1 fosforila/activa Akt. Akt-P se libera del complejo asociado a la membrana, se dirige al citoplasma donde fosforila/activa numerosas proteínas diana como BAD (inhibe la apoptosis) y GSK-3 (que activa la síntesis de glucógeno, de lípidos y de proteínas). PDK1 activa además otras rutas de señalización mediante la fosforilación/activación de otras proteína kinasas como PKC-ζ (translocación del transportador de glucosa GLUT-4) o SGK (transporte de sodio). En resumen **(Figura 19)**:

Insulina → receptor tirosina kinasa → unión IRS → fosforilación IRS → IRS-P activa PI3K → síntesis de PI(3,4)P2 y PI(3,4,5)P3 → asociación de PDK1 y Akt a PI(3,4)P2 o PI(3,4,5)P3 → PDK1 fosforila Akt, PKC-ζ, y SGK → Akt-P fosforila BAD y GSK-3 → y GSK-3 activa la síntesis de glucógeno, de lípidos y de proteínas → BAD-P desactiva la apoptosis → GSK-3-P activa la síntesis de glucógeno → PKC-ζ-P activa la translocación del transportador de glucosa GLUT-4, aumentando la captación de glucosa → SGK-P activa el transporte de sodio

6.5. Vía Jak/STAT y citokinas

Muchas de las rutas descritas trasladan el mensaje desde el exterior celular hasta el núcleo mediante una cascada de proteínas kinasas, modificando la transcripción de genes específicos. Una vía alternativa, conocida como la vía Jak/STAT, proporciona una conexión más directa entre los receptores asociados a proteínas tirosina kinasa y los factores de transcripción **(Figura 20)**. Más de 30 citokinas y hormonas activan la ruta Jak/STAT tras unirse a sus receptores. En esta vía, la unión del ligando provoca la fosforilación de las proteínas tirosina kinasa asociadas al receptor, que acaban fosforilando el propio receptor. Finalmente, los factores de transcripción solubles en el citoplasma son reclutados al receptor fosforilado, son fosforilados, dimerizan y se trasladan desde la membrana al interior del núcleo, donde se unen al DNA, regulando la expresión de genes.

Los receptores para las citokinas están compuestos de dos péptidos, separados hasta que unen el ligando, y cada uno de ellos asociado a una proteína tirosina kinasa de la familia Jak (descritas previamente). Se piensa que el mecanismo de la señalización en los receptores asociados a tirosina kinasas es la oligomerización del receptor inducida por ligando y la fosforilación cruzada de las proteínas tirosina kinasa no receptoras asociadas. Estas tirosina kinasas activadas fosforilarán al receptor, lo que proporcionará sitios de unión de fosfotirosina para las moléculas señal intracelulares que tengan dominios SH2.

Los elementos clave de esta vía son las proteínas STAT (transductores de señal y activadores de transcripción) que se identificaron originalmente al estudiar la señalización de los receptores para el interferón. Las

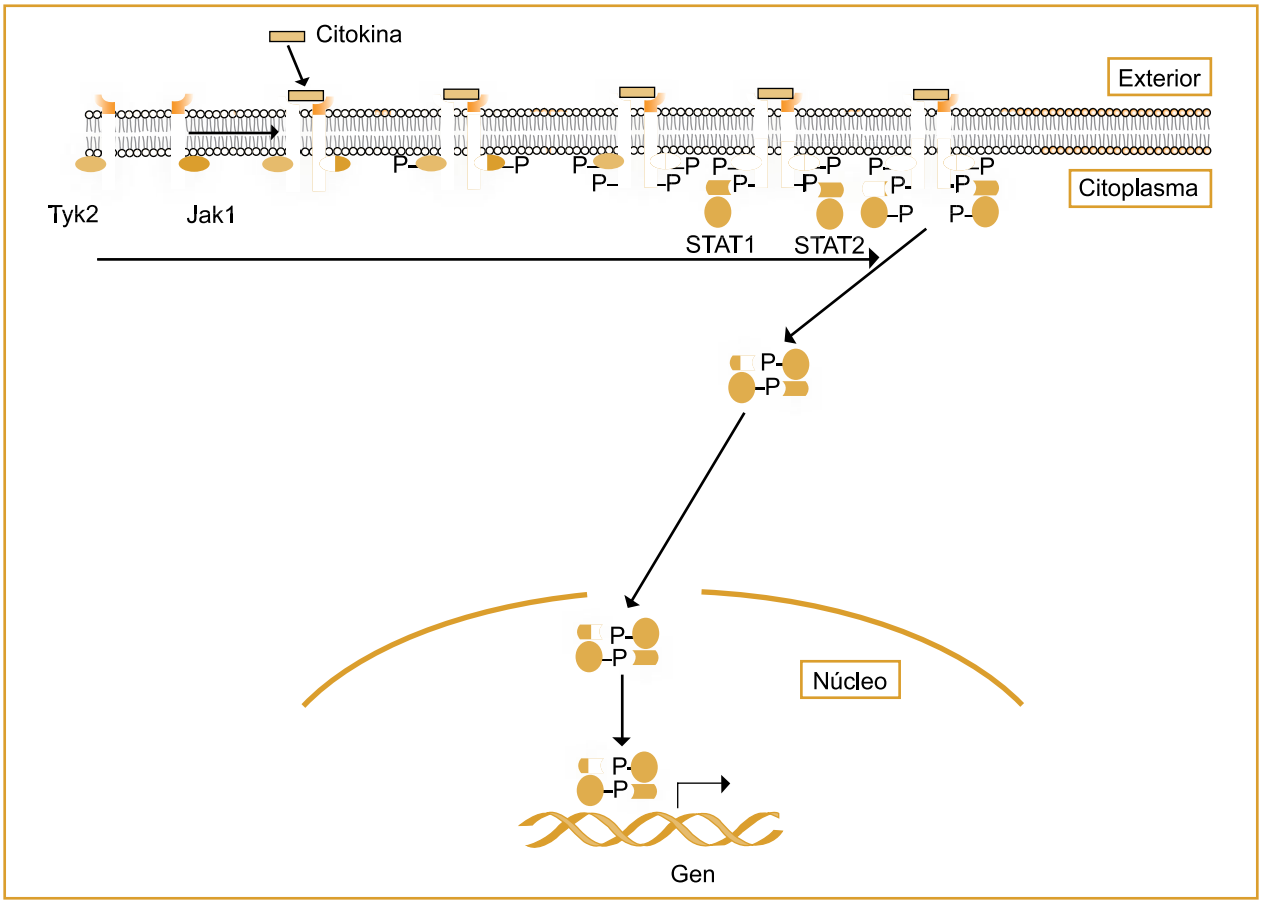


Figura 20. *Ruta de señalización Jak/STAT.*

proteínas STAT son una familia de siete factores de transcripción (de STAT-1 a STAT-7) que contienen dominios SH2. Son inactivos en aquellas células que no hayan sido estimuladas, localizándose en el citoplasma. Al estimularse el receptor de interferón, las proteínas STAT se agrupan y se unen, a través de los dominios SH2, a los residuos de fosfotirosina del dominio citoplasmático del receptor. Tras su unión a los receptores activados, las tirosina kinasas Jak fosforilan en residuos de tirosina a STAT que se disocian del receptor. Estas fosfotirosinas en STAT inducen la dimerización de las proteínas STAT a través de sus dominios SH2, de forma que se asocian en homo o heterodímeros, las cuales se traslocan al núcleo, donde activan la transcripción de sus genes diana. Esta ruta está regulada a menudo por retroinhibición. Además de los genes cuya transcripción activan, los dímeros STAT activan la transcripción de proteínas inhibidoras de la ruta. Estas proteínas interfieren en la ruta, interponiéndose en la asociación de STAT al receptor. Por otro lado, existen proteína fosfatasas que desactivan las proteínas STAT al eliminar el fosfato de los residuos de tirosina. En resumen **(Figura 20)**:

Citokina → oligomerización del receptor → fosforilación cruzada de proteínas Jak → fosforilación del receptor → asociación de STAT → fosforilación de STAT → separación y dimerización → translocación nuclear → activación directa de la transcripción de genes específicos

6.6. Vía de serina/treonina kinasas y superfamilia TGF-β

Como ya se indicó al hablar de los receptores serina/treonina kinasas, esta ruta señaliza el mensaje de la superfamilia del TGF-β. El mecanismo bá-

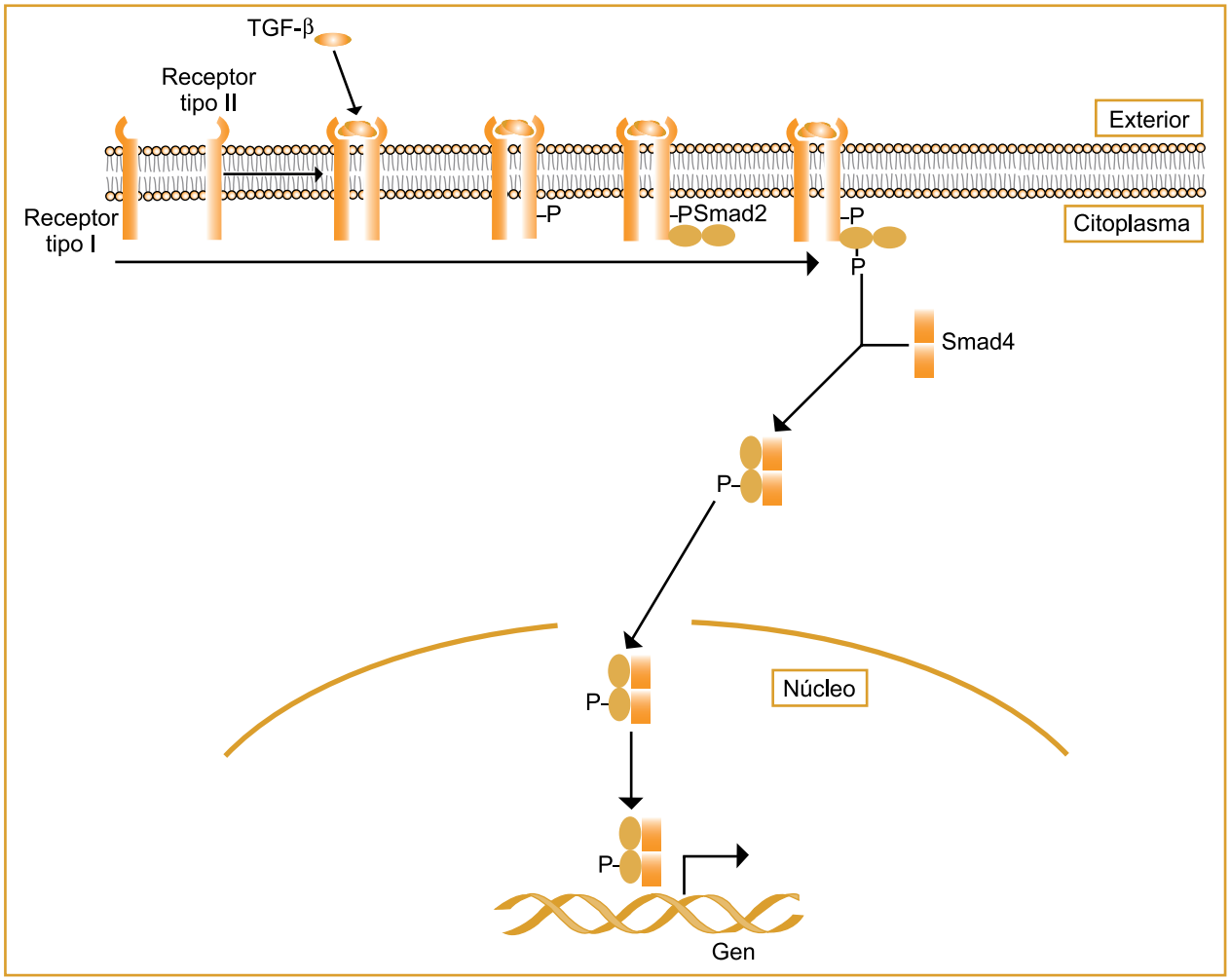


Figura 21. *Ruta de señalización de la familia TGF-β.*

sico de señalización consiste en la unión del ligando al receptor tipo II homodimérico que recluta y fosforila/activa el receptor tipo I homodimérico, formando un receptor activo tetramérico.

Dentro de la célula, esta ruta se comporta de un modo similar a la Jak/STAT de receptores de citokinas **(Figura 21)**. El receptor tipo I activo fosforila los miembros de una familia de factores de transcripción denominados SMAD. Los receptores para TGF-β y activina pueden fosforilar Smad2 o Smad3, mientras que los receptores para la proteína morfogénica del hueso (BMP) activan Smad1, Smad5 o Smad8. Una vez fosforilada una de estas Smad, se disocia del receptor y se asocia con Smad4, que es polivalente y forma un compejo de asociación con todas las Smads mencionadas previamente. Este complejo se moviliza hasta el núcleo, donde se une al DNA y activa la transcripción de un grupo específico de genes, los cuales se translocan al núcleo y activan la expresión de los genes diana. En resumen **(Figura 21)**:

Proteína familia TGF-β → unión de receptor tipo II → unión de receptor tipo I → fosforilación de receptor tipo I → unión de Smad → fosforilación de Smad → separación de Smad → unión de Smad con Smad4 → traslocación nuclear → activación de la transcripción de genes

Esta ruta está regulada también por retroinhibición. Entre los genes activados por Smad, están los que codifican para proteínas inhibitorias de la ruta, Smad6 y Smad7, que actúan como un obstá-

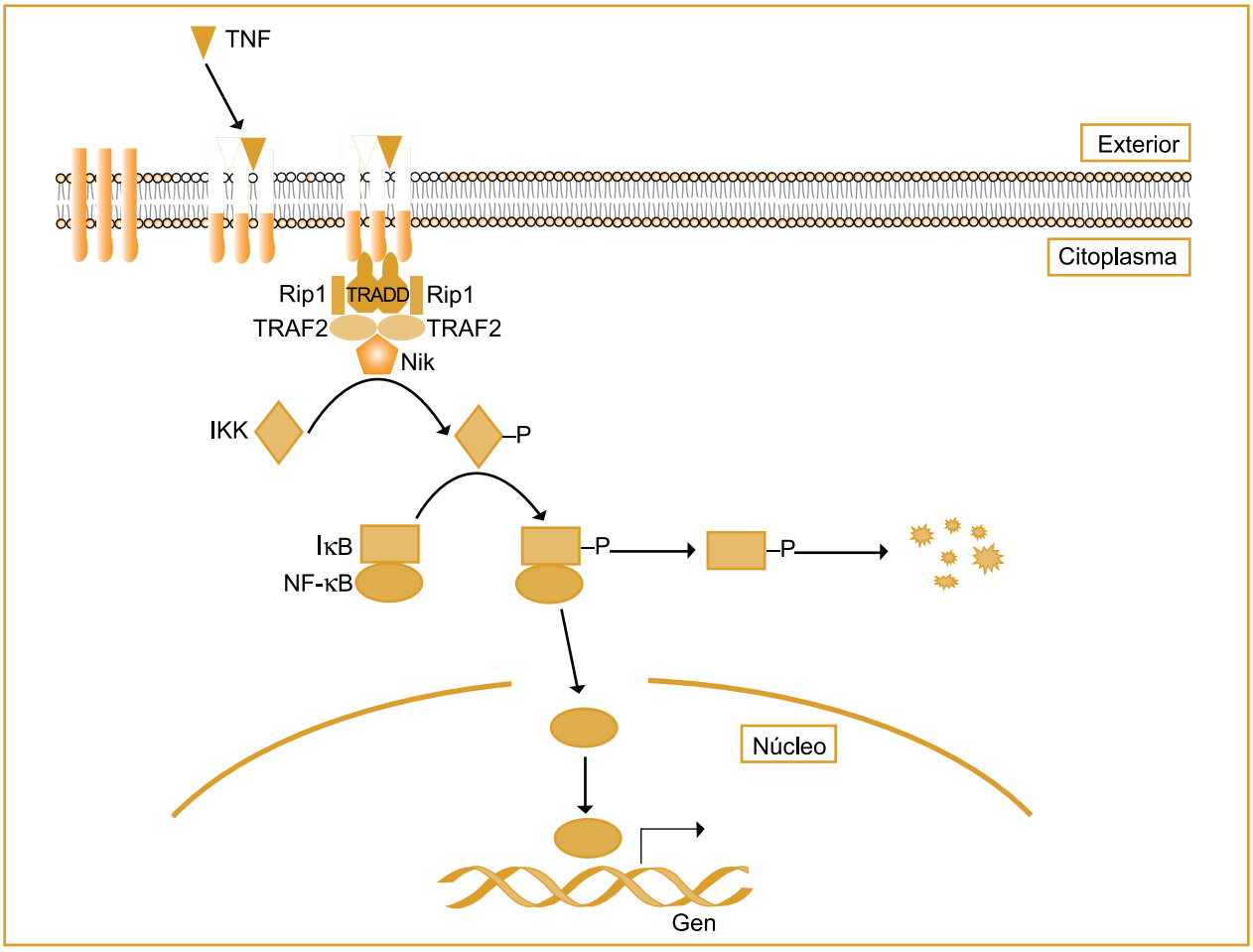


Figura 22. *Ruta de señalización vía NF-κB.*

culo. Se unen a los receptores tipo I impidiendo la formación de Smad activa. Curiosamente, otras rutas pueden generar las Smad inhibitorias. El interferón γ por vía Jak/STAT activa la síntesis de Smad7, que bloquea la señalización por TGF-β.

6.7. Vía NF-κB, caspasas y familia del factor de necrosis tumoral (TNF)

La familia TNF está constituida por TNF, linfotoxina α, ligando Fas, ligando CD40 y otros ligandos que ejercen funciones pleiotrópicas en la inmunidad, la inflamación y el control de la proliferación, diferenciación y apoptosis (*ver Capítulo 1.4*). Estas proteínas intervienen en la señalización de la decisión entre la supervivencia o la muerte celular programada. Se unen a miembros de la familia del receptor de TNF que pueden señalizar la apoptosis en varios tipos celulares activando directamente las caspasas o la supervivencia mediante la vía NF-κB.

Las proteínas de la familia NF-κB son funcionalmente factores de transcripción. Son cinco proteínas NF-κB en los mamíferos (RelA, RelB, c-Rel, NF-κB1 y NF-κB2), que se unen formando homo o heterodímeros, donde cada asociación distinta activa la transcripción de un grupo concreto de genes. Los complejos NF-κB están normalmente inactivos en el citoplasma mediante la unión de la proteína inhibidora IκB en prácticamente todas nuestras células.

El mecanismo de señalización de la vía NF-κB se basa en la proteólisis inducida de IκB y la liberación de NF-κB que activa la transcripción de genes **(Figura 22)**. La unión del ligando (TNF) al receptor provoca una reorganización de sus dominios

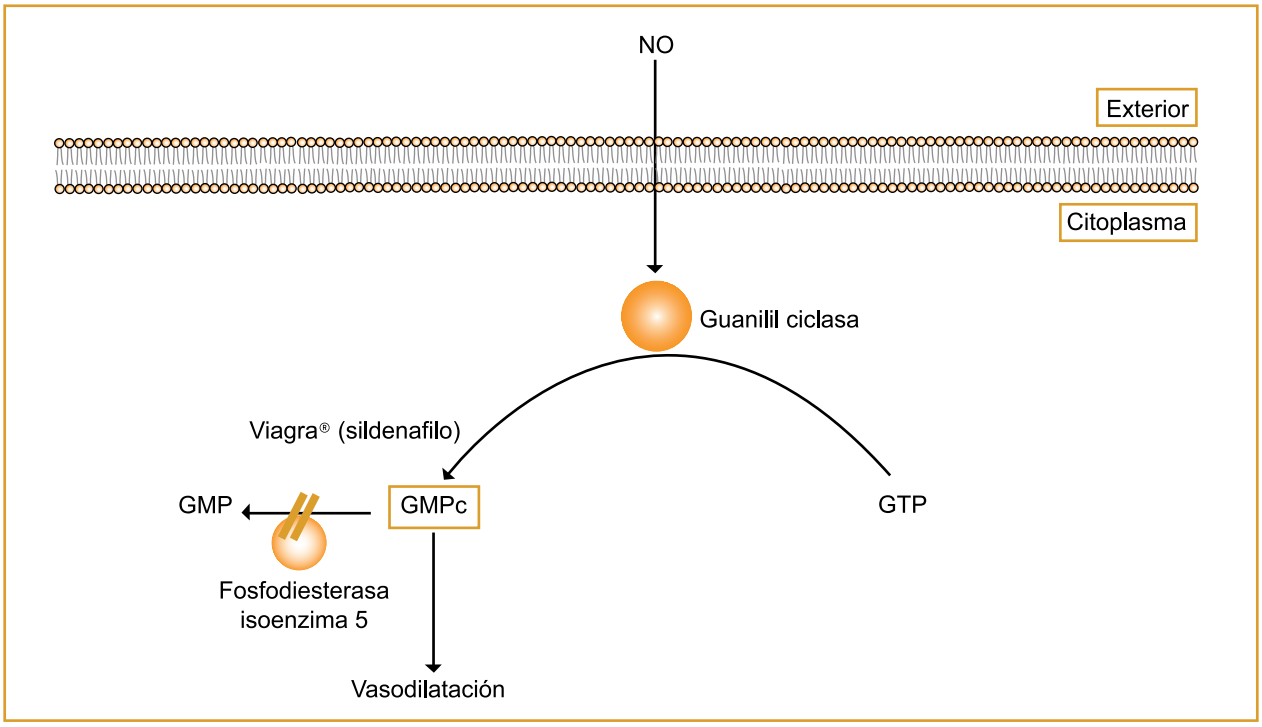


Figura 23. *Vía del óxido nítrico y acción del sildenafilo (Viagra®).*

citoplásmicos: dominio rico en cisteínas y dominio muerte (*death domain*), que reclutan un grupo de proteínas adaptadoras como la proteína kinasa que interacciona con el receptor (RIP), dos proteínas asociadas al dominio muerte (TRADD) y la proteína factor 2 asociada al receptor TNF (TRAF2). Este complejo citoplásmico unido al receptor recluta la proteína kinasa de NF-κB (NIK), que fosforila la proteína kinasa de IκB (IKK). IKK fosforila finalmente IκB, que está unida a NF-κB. Esta fosforilación hace que se disocie el complejo IκB/NF-κB, y marca a IκB, a la que se une la ubiquitina, y es degradada en el proteasoma. NF-κB libre se traslada al núcleo, donde activa la transcripción de genes antiapoptóticos, entre ellos la del gen IκB, lo que provee a la célula de nuevo con IκB para inhibir la ruta de nuevo hasta la siguiente señalización. El mensaje de la vía NF-κB promueve la supervivencia celular.

Los mismos receptores por otra vía promueven la apoptosis, activando las caspasas. Las caspasas son una familia de proteasas que provocan la muerte celular al romper más de 40 proteínas diferentes cuando son activadas. Están presentes en forma de zimógeno como procaspasas, es decir, son activadas por proteólisis. Si, como se acaba de ver, la vía NF-κB indica supervivencia, estos mismos receptores promueven la apoptosis. En el caso del receptor I para TNF (TNFR1), la dualidad de señalización supervivencia-apoptosis desde el receptor viene regulada por la formación de dos complejos (I y II) del receptor. El primero es el receptor asociado con las proteínas a su dominio citoplásmico, que, como se ha visto, señaliza supervivencia vía NF-κB. El complejo II lo constituyen sólo las proteínas que se asocian al dominio intracelular del receptor que unen la procaspasa-8 o procaspasa-10 y la proteína inhibidora de caspasa (FLIP), soluble en el citoplasma. En esta forma, el complejo II es inactivo pero la ausencia de FLIP del complejo permite la formación de caspasa-8 y caspasa-10, que inician la apoptosis. Esta área aún está bajo estudio y la hipótesis actual establece que la presencia de la proteína FLIP es el árbitro entre la supervivencia y la muerte celular (*ver Capítulo 1.32*).

6.8. Vía del óxido nítrico

En los mamíferos, el NO es un vasodilatador por relajación del músculo liso de los vasos sanguíneos. En respuesta a la liberación local de acetilcolina, las células endoteliales sintetizan el NO por desamina-

ción del aminoácido arginina, catalizado por la enzima óxido nítrico sintasa. Dado que atraviesa con facilidad las membranas celulares, el NO difunde fuera de la célula que lo sintetizó y puede actuar localmente afectando a células próximas. Su acción se restringe a estos efectos locales ya que el NO es extremadamente inestable, con una vida media de sólo unos pocos segundos en el espacio extracelular. En las células diana, incluyendo las células endoteliales, el NO se une al hierro del grupo hemo situado en el centro activo de la enzima guanilato ciclasa, estimulando la síntesis intracelular de GMPc a partir de GTP. Los efectos del NO transcurren en segundos porque los niveles de GMPc están muy controlados: una degradación rápida del GMPc por una fosfodiesterasa equilibra constantemente el balance en la producción de GMPc. La respuesta del endotelio al NO consiste en la relajación de las células musculares y la dilatación de los vasos sanguíneos.

Este efecto del NO sobre los vasos sanguíneos proporciona una explicación para la acción de la nitroglicerina y del fármaco sildenafilo. La nitroglicerina ha sido usada desde hace más de 100 años para el tratamiento de la angina de pecho. La nitroglicerina se convierte en NO que relaja los vasos sanguíneos del músculo cardiaco, aumentando el flujo sanguíneo y el aporte de oxígeno. Por otro lado, el NO regula la vasodilatación local causante de la erección del pene. El fármaco sildenafilo es un inhibidor de la isoenzima de fosfodiesterasa de GMPc mayoritaria en las células endoteliales del pene. Su consumo prolonga la vida media del GMPc intracelular al inhibir su degradación, prolongando los efectos del NO, después de ser inducida su producción por los terminales nerviosos locales. El GMPc mantiene los vasos relajados y el pene erecto.

En resumen **(Figura 23)**:

Neurotransmisor → síntesis y liberación de NO → entrada en la célula endotelial → unión a la guanilato ciclasa → aumento de [GMPc] intracelular → vasodilatación local

7. Resumen

- Cada una de las células del ser humano está programada durante el crecimiento y el desarrollo para responder a un conjunto específico de señales que, actuando en combinaciones, regulan el comportamiento bioquímico coordinado de cada célula de los distintos tejidos. La supervivencia depende de una red compleja de comunicaciones intercelulares que coordinan el crecimiento, la división, la muerte programada, la diferenciación y el metabolismo de los múltiples tipos de células que forman los distintos tejidos.

- La señalización celular requiere tanto moléculas señalizadoras o ligandos como un conjunto de proteínas receptoras situadas en la célula que deba responder a esa señal. La interacción ligando-receptor es muy específica y de una elevada afinidad. En esencia, el mecanismo consiste en que el estímulo genera una molécula señalizadora que, tras desplazarse una distancia variable, interacciona con su receptor situado en la célula diana y provoca una cascada de reacciones intracelulares que son las que regulan, en gran medida, los diferentes aspectos del comportamiento celular. Cada señal puede causar una gran cantidad de cambios a distintos niveles en la célula diana (forma, movimiento, metabolismo, expresión génica…).

- Existen cientos de moléculas señalizadoras: proteínas ancladas a la membrana celular y compuestos secretados como moléculas hidrófobas pequeñas (hormonas esteroides, tiroideas, retinoides), moléculas hidrófilas (proteínas, péptidos, aminoácidos, nucleótidos, derivados solubles de ácidos grasos) y gases. Los compuestos hidrofóbicos atraviesan la membrana plasmática de la célula diana, uniéndose y activando a su receptor o enzima diana en el citoplasma celular, provocando una respuesta que suele regular la expresión de genes concretos. No obstante, la mayoría de las moléculas señalizadoras son compuestos hidrofílicos cuyos receptores están expuestos en la superficie de la membrana celular. Estructuralmente, la proteína receptora presenta tres partes: la extracelular, que une específicamente el ligando, la transmembrana, y la intracelular, que posee actividad enzimática o activadora de proteínas citoplásmicas. Cada ligando posee una ruta característica de transmisión intracelular de la señal según el receptor con que interaccione. En muchos casos, la interacción ligando-receptor provoca la alteración en la concentración de un compuesto intracelular (segundo mensajero), que es el responsable de inducir la cascada de reacciones intracelulares determinantes del cambio en el comportamiento celular (p. ej., AMPc, GMPc, Ca^{2+}, IP_3...).

- Existen cuatro tipos de receptores superficiales: receptores asociados a canales iónicos, receptores asociados a proteínas G, receptores asociados a enzimas y receptores que regulan reacciones proteolíticas. Habitualmente, la transducción de la señal provoca reacciones enzimáticas de fosforilación mediante proteína kinasas. A través de cascadas de reacciones de fosforilación, muy bien reguladas, conjuntos elaborados de proteínas interaccionan entre ellas, transportando la señal desde el exterior celular hasta el núcleo, alterando el patrón de expresión génica y, en consecuencia, el comportamiento celular.

- Y, por último, las distintas rutas de señalización intracelular interaccionan entre sí, creando una red de conexiones intracelulares entre rutas, que capacitan al sistema a recibir múltiples señales, interpretarlas, y producir una respuesta celular unificada y apropiada. Es la integración de las rutas de señalización intracelular.

8. Bibliografía

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell, 4ª ed. Garland Pub, 2002. ISBN 0815332181.
Probablemente el libro más completo sobre la biología de la célula.

Chang L, Karin M. Mammalian MAP kinase signalling cascades. Nature 2001; 410: 37-40.
Revisión sobre la vía de señalización de las MAP kinasas.

Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-B family signalling. Nature 2003; 425: 577-84.
Una revisión actualizada de la vía de señalización de la familia de TGF-B.

Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPases in cell biology. Nature 2002; 420: 629-35.
Una revisión actualizada del papel de las GTPasas monoméricas en la regulación del comportamiento celular.

Gomperts BD. Signal Transduction. Academic Press, 2003. ISBN 0122896327.
Libro escrito de forma sencilla y comprensible, y al día en la información científica. Los capítulos están muy bien integrados y abarcan desde la base de la comunicación celular hasta la descripción y función de los dominios de proteínas implicadas en la señalización intracelular.

Pawson T. Specificity in signal transduction: from phosphotyrosine-SH2 domain interactions to complex cellular systems. Cell 2004; 116: 191-203.
Revisión sobre el papel de las interacciones proteicas en la señalización celular.

Ridley AJ, Schwartz MA, Burridge K, Firtel RA, Ginsberg MH, Borisy G, Parsons JT, Horwitz AR. Cell migration: integrating signals from front to back. Science 2003; 302: 1704-9.
Revisión sobre la señalización de la migración celular.

Rockman HA, Koch WJ, Lefkowitz RJ. Seven-transmembrane-spanning receptors and heart function. Nature 2002; 415: 206-12.
Revisión sobre los receptores transmembrana 7.

Werlen G, Hausmann B, Naeher D, Palmer E. Signaling life and death in the thymus: timing is everything. Science 2003; 299: 1859-63.
Revisión sobre la señalización celular que controla la supervivencia celular.

9. Enlaces web

- www.biocarta.com
- www.cellsignal.com/reference/index.asp
- www.stke.org
- www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest/Life_Science/Cell_Signaling/Scientific_Resources/Pathway_Slides___Charts.html

1.6. Síntesis, degradación y recambio de las proteínas

Ángel Gil Hernández ■ Fermín Sánchez de Medina Contreras

Capítulo 1.6.

Síntesis, degradación y recambio de las proteínas

1. Introducción

2. Biosíntesis de proteínas

2.1. Flujo de la información genética

2.2. El código genético

2.3. Activación de los aminoácidos y formación de los aminoacil-tRNA

2.4. Etapas de la síntesis de proteínas

2.4.1. Iniciación

2.4.2. Elongación

2.4.3. Terminación

3. Síntesis de proteínas por los polisomas y tráfico intracelular proteico

3.1. Biosíntesis y tráfico de proteínas sintetizadas en los polisomas libres

3.1.1. Síntesis y transporte de proteínas mitocondriales

3.1.2. Transporte nuclear de proteínas

3.1.3. Transporte de proteínas a los peroxisomas

3.2. Síntesis y tráfico de proteínas en el retículo endoplásmico

3.2.1. Síntesis de proteínas en polisomas asociados al retículo endoplásmico

3.2.2. Inserción de proteínas en el retículo endoplásmico

3.2.3. N-glicosilación de proteínas en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi

3.3. Transporte vesicular de proteínas e inserción de proteínas en las membranas celulares

4. Plegamiento de las proteínas

4.1. Proteínas auxiliares

4.1.1. Chaperonas

4.1.2. Proteína disulfuro isomerasa

4.1.3. Peptidil prolina isomerasa

4.2. Enfermedades producidas por el plegamiento incorrecto de las proteínas

5. Degradación de proteínas

5.1. Proteasoma

5.2. Ubiquitinación

5.3. Significado fisiológico del sistema ubiquitina-proteasoma

5.4. Regulación del sistema ubiquitina-proteasoma
5.5. Localización del sistema ubiquitina-proteasoma
5.6. Alteraciones patológicas relacionadas con el sistema ubiquitina-proteasoma
5.7. Otros sistemas proteolíticos

6. Control de calidad de la conformación espacial de las proteínas

7. Recambio proteico
7.1. Dinámica de las proteínas
7.2. Métodos de medida del recambio proteico
7.3. Recambio proteico y adaptación
7.4. Regulación del recambio proteico

8. Resumen

9. Bibliografía

10. Enlaces web

Objetivos

- Conocer el flujo de la información genética y las biomoléculas implicadas.
- Comprender el código genético y conocer sus características.
- Conocer la reacción de activación de los aminoácidos en la biosíntesis de proteínas.
- Distinguir las diferentes etapas de la traducción.
- Conocer los principales acontecimientos en la iniciación, elongación y terminación de la síntesis proteica.
- Comprender las principales características de las señales que permiten a las proteínas alcanzar sus lugares de destino en la célula.
- Conocer los aspectos fundamentales de la glicosilación de las proteínas.
- Comprender el concepto de chaperona y sus tipos.
- Identificar las funciones del sistema ubiquitina-proteasoma en la degradación proteica.
- Comprender el concepto de recambio proteico.

1. Introducción

El recambio proteico es una característica general de todos los seres vivos. Las proteínas están formándose y degradándose continuamente. De esta forma se facilitan los procesos de diferenciación y desarrollo y se puede hacer frente a situaciones patológicas diversas. Los tejidos pueden responder a las demandas ambientales alterando las proporciones de síntesis y degradación proteica y cambiando el espectro de proteínas sintetizadas.

La biosíntesis de proteínas se realiza de acuerdo con la información genética contenida en el DNA a través de la formación de los RNA mensajeros. Las células disponen de la maquinaria necesaria para traducir la información contenida en la secuencia del RNA mensajero a la secuencia de la proteína correspondiente. El proceso de la síntesis de proteínas es extraordinariamente complejo y requiere la colaboración de varios orgánulos celulares, de multitud de proteínas y de varios tipos de RNA. Además, se requiere un importante gasto energético.

Un aspecto muy interesante de la biosíntesis proteica lo constituye el tráfico de las proteínas recién sintetizadas hasta su ubicación celular definitiva, especialmente cuando se trata de proteínas de secreción y membrana. Por otra parte, se está prestando en la actualidad una gran atención al fenómeno del plegamiento de las proteínas, proceso que les permite adquirir su estructura espacial característica por la que pueden ejercer sus funciones. Si la proteína no adquiere esta estructura espacial no sólo no será útil para la célula, sino que originará la formación de agregados tóxicos implicados en diversas enfermedades de gran trascendencia.

La biosíntesis de proteínas está sometida a un proceso de regulación muy elaborado, que se produce especialmente sobre la etapa de la transcripción. Sin embargo, la vida media de una proteína no depende solamente de la velocidad de su síntesis, sino también del ritmo de su degradación. El principal mecanismo para degradar las proteínas de manera específica es el constituido por el sistema ubiquitina-proteasoma. Este sistema está implicado en la regulación de la vida media de multitud de proteínas de funciones fisiológicas muy diversas. Además, se ocupa de la degradación de las proteínas plegadas incorrectamente, previniendo así sus efectos tóxicos.

En este Capítulo se desarrollarán los temas que se acaban de describir y se hará un especial énfasis en el significado del recambio proteico, su interés nutricional y la regulación de dicho proceso por la biodisponibilidad de los aminoácidos.

2. Biosíntesis de proteínas

2.1. Flujo de la información genética

La información genética contenida en la secuencia de nucleótidos del DNA se transcribe en el núcleo en una secuencia específica de nucleótidos de una molécula de RNA. La secuencia del RNA transcrito es complementaria de la secuencia de nucleótidos de la cadena de DNA que sirve de molde, de acuerdo con la regla de apareamiento de bases (A-U, G-C, T-A y C-G). Existen varios tipos de RNA y todos intervienen en la síntesis de proteínas.

Aunque en los organismos procariotas existe correspondencia lineal entre la secuencia de un gen, el RNA mensajero (mRNA) transcrito y el producto traducido, es decir, la proteína, la situación es mucho más compleja en los seres eucarióticos y, particularmente, en el ser humano. En éste existen unos transcritos primarios precursores del mRNA maduro llamados hnRNA (RNA heterogéneo nuclear), constituidos a partir de las regiones codificantes de los genes, denominadas **exones**, y otras regiones denominadas **intrones** que separan a los exones. El hnRNA se procesa dentro del núcleo de la célula y los intrones, que frecuentemente suponen una longitud mayor que los exones, son eliminados mediante un proceso de corte y empalme llevado a cabo por unas partículas ribonucleoproteicas llamadas **espliceosomas**. El mRNA maduro, constituido por varios exones es transportado al citoplasma y traducido hasta dar una proteína **(Figura 1)**. No obstante, la posibilidad de empalme alternativo de los exones es la causa de que a partir de un mismo gen se puedan obtener varios mRNA, constituidos por diferentes exones, y por tanto varias proteínas.

Las células disponen de la maquinaria necesaria para traducir la información de manera precisa y eficiente desde la secuencia del mRNA hasta la secuencia de aminoácidos de una proteína. La síntesis de proteínas en el citoplasma de la célula, proceso denominado **traducción**, es posible por la interacción del mRNA con los ribosomas, partículas de naturaleza ribonucleoproteica, constituidas por RNA ribosómico (rRNA) y por varias proteínas. Además de los ribosomas, se dispone de una serie de moléculas adaptadoras denominadas RNA de transferencia (tRNA) que son capaces de adaptarse mediante apareamiento de bases al mRNA y que llevan unido un aminoácido específico, de manera que a cada triplete de bases en el mRNA se adapta un tRNA particular con un aminoácido característico **(Figura 2)**.

2.2. El código genético

Las letras A, G, T y C, que se corresponden con los nucleótidos de la adenina, guanina, timina y citosina, respectivamente, y se encuentran en el DNA, se organizan en un código de palabras de tres letras denominadas **codones**, y al conjunto de ellas se le llama **código genético**. Éste permite explicar la forma en que las proteínas defectuosas pueden ser la causa de numerosas enfermedades, así como su importancia en el diagnóstico

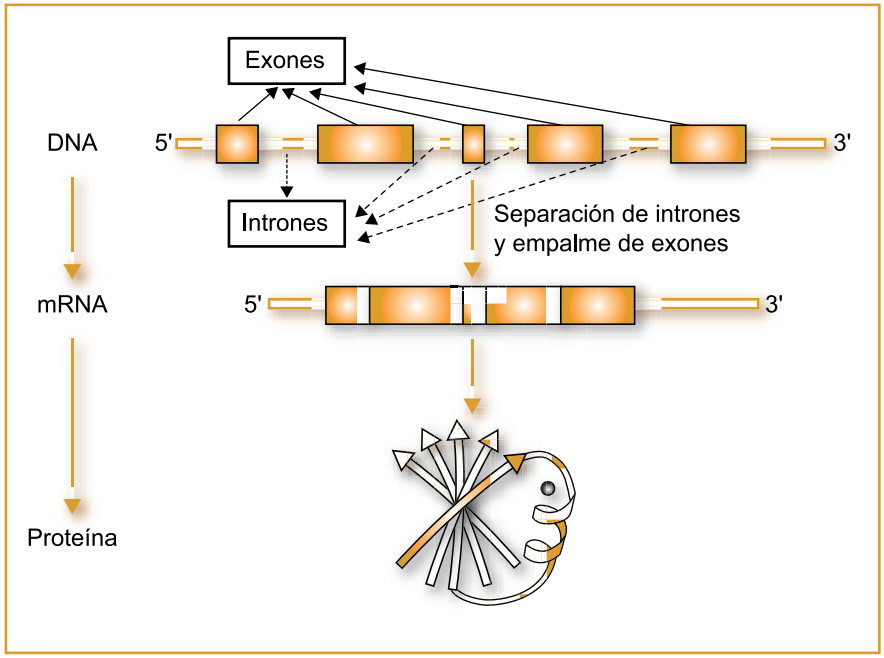


Figura 1. *Estructura de un gen eucariótico y flujo de la información genética.*

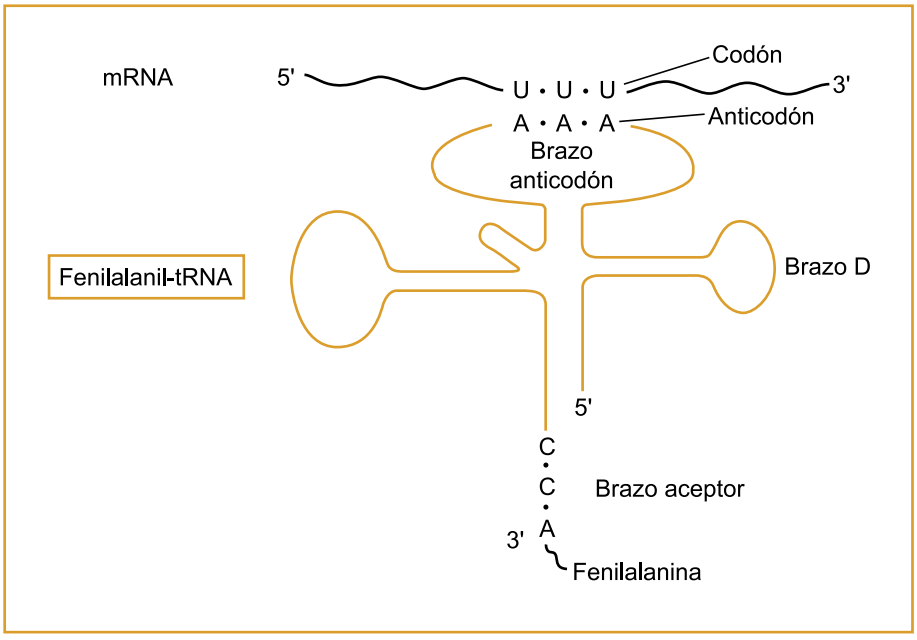


Figura 2. *Estructura de un aminoacil-tRNA.*

como señales de terminación de la cadena polipeptídica; es decir, determinan cuándo debe terminar la incorporación de los aminoácidos a una proteína. Los restantes 61 codones especifican los 20 aminoácidos. Por ello, al código genético se le denomina "degenerado" o "redundante", ya que más de un triplete codifica para un mismo aminoácido. Algunos aminoácidos, como la serina, son codificados por hasta seis codones diferentes. Sin embargo, otros aminoácidos, como la metionina y el triptófano, son especificados por un codón único. En general, el último nucleótido de un codón es menos importante que los dos anteriores para determinar el aminoácido que debe incorporarse a la cadena polipeptídica. No obstante, salvo raras excepciones, cada codón sólo especifica un aminoácido, es decir, el código genético es preciso y carece de ambigüedad.

y en el tratamiento de estas patologías. Además, el código genético permite interpretar la patofisiología de muchas infecciones, especialmente virales, ya que estos patógenos alteran la síntesis proteica de las células hospedadoras. Asimismo, muchos antibióticos son efectivos porque alteran selectivamente la síntesis proteíca de las bacterias invasoras, pero no la síntesis de las células eucarióticas. Por otra parte, permite explicar por qué los nutrientes, directa o indirectamente, pueden influenciar la expresión génica (*ver Capítulos 1.7 y 1.31*).

Para la síntesis proteica se necesitan 20 aminoácidos diferentes. Por consiguiente, se necesitan al menos 20 codones distintos en el código genético. Como existen cuatro nucleótidos diferentes, si los codones estuviesen constituidos por agrupaciones de dos letras sólo se obtendrían 16 codones (4^2 combinaciones de repetición de cuatro letras tomadas de dos en dos), mientras que la agrupación de dichas letras tomadas de tres en tres, es decir, tripletes de nucleótidos, dan lugar a un código de 64 codones específicos (4^3). Efectivamente, es conocido y aceptado universalmente que el código genético está formado por codones o "palabras" constituidas por tres nucleótidos **(Tabla 1)**.

De entre las 64 posibilidades o codones posibles, no todos especifican aminoácidos. Tres de ellos, conocidos como **codones sin sentido**, se utilizan

La precisión del código genético puede explicarse porque los codones del mRNA son reconocidos por unas regiones de los tRNA denominadas **anticodones**, constituidas también por tres nucleótidos, que se aparean a los codones siguiendo las reglas de la complementariedad de bases **(Figura 2)**. Para cada codón del mRNA sólo existe un tRNA específico que lleva el anticodón complementario y, por tanto, cada tRNA lleva un aminoácido determinado.

Sin embargo, algunos tRNA pueden utilizar su anticodón para reconocer más de un codón. En definitiva, con muy pocas excepciones, dado un codón específico, sólo se incorpora un aminoácido determinado, aunque, dado un aminoácido, se puede utilizar más de un codón.

La lectura del código genético se realiza sin que exista solapamiento de los codones. Además, una vez que comienza la lectura en un codón específico, el mensaje se lee de forma continua sin que existan puntuaciones entre los codones. Así, una vez que comienza la lectura en un codón determina-

Tabla 1. CÓDIGO GENÉTICO[a]

Primer nucleótido	Segundo nucleótido				Tercer nucleótido
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Parada	Parada[b]	A
	Leu	Ser	Parada	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile[b]	Thr	Lys	Arg[b]	A
	Met	Thr	Lys	Arg[b]	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

[a] Los términos primer, segundo y tercer nucleótido hacen referencia a los nucleótidos individuales de un codón. U: uridín nucleótido; C: citidín nucleótido; A: adenín nucleótido; G: guanín nucleótido.
AUG, que codifica para metionina, actúa como codón iniciador en todas las células de los mamíferos y codifica también para las metioninas internas dentro de una proteína.
UAA, UAG y UGA son los codones sin sentido o de terminación de la cadena polipeptídica.
Phe: fenilalanina; Leu: leucina; Ile: isoleucina; Met: metionina; Val: valina; Ser: serina; Pro: prolina; Thr: treonina; Ala: alanina; Tyr: tirosina; Parada: terminación o parada de la cadena polipeptídica; His: histidina; Gln: glutamina; Asn: asparragina; Lys: lisina; Asp: aspártico; Glu: glutámico; Cys: cisteína; Trp: triptófano; Arg: arginina; Gly: glicina.
[b] En las mitocondrias de los mamíferos, AUA codifica para Met, UGA para Trp, y AGA y AGG sirven como codones de terminación.

do, el mensaje se lee como una secuencia continua de tripletes de nucleótidos hasta que se alcanza un codón de parada o terminación.

El código genético es universal, es el mismo desde el más pequeño microorganismo hasta la especie humana. No obstante, existen algunos tRNA en las mitocondrias de los seres superiores, las cuales contienen su propia maquinaria de traducción separada e independiente del resto de la célula, que lee cuatro codones de forma diferente a los tRNA presentes en el citoplasma de las mismas células. Así, en las mitocondrias el codón AUA traduce metionina, y el UGA, triptófano. Además, los codones AGA y AGG se comportan como codones de parada en las mitocondrias, mientras que en el citoplasma se leen como arginina **(Tabla 1)**. Por otra parte, las mitocondrias sólo necesitan 22 tRNA diferentes para leer su código genético, mientras que la traducción en el citoplasma requiere 31 especies distintas de tRNA.

El apareamiento de la base del tercer nucleótido de un codón con la correspondiente del anticodón no es tan estricto como el apareamiento de las dos primeras bases. Esto es lo que se conoce con el nombre de **balanceo** y explica la degeneración del código genético. Por ejemplo, los tres codones que codifican para la glicina (GGU, GGC y GGA) pueden unirse a un mismo anticodón formado por CCI, siendo I la base inosina, una de las bases peculiares de los tRNA que no aparecen en otros ácidos nucleicos.

Las características fundamentales del código genético se resumen en la **Tabla 2**.

2.3. Activación de los aminoácidos y formación de los aminoacil-tRNA

Las moléculas de tRNA poseen estructuras y funciones extraordinariamente similares. La función adaptadora de estas moléculas requiere que cada una de ellas lleve un aminoácido específico. Ahora bien, como no existe afinidad de los ácidos nucleicos por los aminoácidos, el reconocimiento tanto de los tRNA como de los aminoácidos particulares a los que se unen se realiza por enzimas muy específicas denominadas aminoacil-tRNA sintetasas. Por tanto, existen 20 aminoacil-tRNA sintetasas que llevan a cabo el proceso de reconocimiento y de unión de los 20 aminoácidos diferentes a los correspondientes tRNA. La tasa de error de estas enzimas al unir los aminoácidos es muy baja, del orden de 10^{-4}, y disponen de mecanismos para eliminar los aminoácidos unidos al azar de forma incorrecta.

Las moléculas de tRNA tienen una estructura secundaria en forma de cruz con varias regiones importantes **(Figura 2)**. El brazo que contiene la secuencia timidina-pseudouridina-citidina (TΨC) está implicado en la unión del aminoacil-tRNA a la superficie de los ribosomas durante la síntesis de las proteínas. El brazo D es importante en el reconocimiento del tRNA por la aminoacil-tRNA sintetasa específica. El brazo aceptor del aminoácido, que contiene el extremo 3', es el lugar de unión del aminoácido específico. El brazo que contiene el anticodón presenta una región con siete nucleótidos que incluye, leído en sentido 3' a 5', una base variable, una purina modificada, el triplete del anticodón y dos pirimidinas. Hay que hacer notar que la lectura de los codones se hace en sentido 5' a 3', mientras que la de los anticodones se efectúa en sentido contrario (antiparalelo).

Tabla 2. CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DEL CÓDIGO GENÉTICO

- Degenerado o redundante
- No ambiguo
- Sin solapamiento
- Sin puntuaciones
- Universal

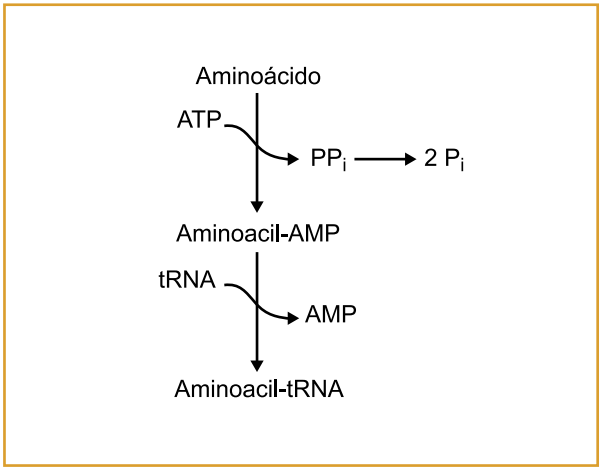


Figura 3. *Formación de los aminoacil-tRNA.*

La formación de los aminoacil-tRNA se esquematiza en la **Figura 3**. Este proceso se lleva a cabo en dos pasos; en el primero se forma un complejo intermediario aminoacil-AMP-enzima, o aminoácido activado, para cuya formación se necesita ATP. Dicho complejo reconoce a un tRNA específico y une el aminoácido a su extremo 3'-hidroxilo. El aminoácido permanece unido mediante un enlace éster al tRNA hasta que se produzca la polimerización en el proceso de síntesis de la cadena polipeptídica.

2.4. Etapas de la síntesis de proteínas

Los ribosomas son las partículas celulares encargadas de traducir la secuencia de nucleótidos de los mRNA en secuencias específicas de aminoácidos formando cadenas polipeptídicas.

La traducción del mRNA comienza en un codón AUG, cerca de su extremo 5' terminal, con la situación del correspondiente met-tRNA, y el mensaje se lee en dirección 5' a 3', concluyendo con la formación del extremo carboxilo terminal de la proteína. En todos los seres superiores, incluida la especie humana, el proceso de traducción se lleva a cabo completamente en el citoplasma celular. Existen dos tRNA que codifican para metionina, uno se une al codón de iniciación AUG y se denomina met-$tRNA^{i}$, y el otro codifica para las metioninas internas de la proteína, teniendo cada uno de ellos una secuencia única.

2.4.1. Iniciación

La iniciación de la síntesis proteica requiere que se seleccione una molécula de mRNA por un ribosoma y que éste encuentre la pauta de lectura correcta, es decir, el nucleótido de comienzo exacto. Este proceso en los eucariotas implica a los mRNA, rRNA y tRNA, y a al menos 10 factores proteicos de iniciación (eIF: ***e**ukariotic **I**nitiation **F**actors*), algunos de los cuales están constituidos por un total de tres a ocho subunidades. También están implicados el GTP, el ATP y los aminoácidos **(Figura 4)**.

La fase de iniciación de la síntesis de proteínas se puede dividir en varias subetapas:

1. Disociación del ribosoma en las subunidades 40S y 60S.

2. Unión del complejo ternario constituido por met-tRNA^{i}, GTP y eIF-2 a la partícula ribosomal 40S, para formar un complejo de preiniciación.

3. Unión del mRNA al complejo de preiniciación para formar un complejo 43S.

4. Combinación del complejo de iniciación 43S con la subunidad 60S del ribosoma para dar lugar al complejo de iniciación 80S.

En la disociación del ribosoma, los factores de iniciación eIF-3 y eIF-1A se unen a la subunidad 40S, lo que retrasa su reasociación con la subunidad 60S, y permite que se puedan unir otros factores de iniciación de la traducción.

En la formación del complejo de preiniciación 43S, el primer paso ocurre con la unión del eIF-2 y el GTP. Este complejo binario se une al met-tRNA^{i} y el nuevo complejo ternario se une a la subunidad 40S, que se estabiliza por asociación con el eIF-3 y el eIF-1A.

El eIF-2 es uno de los dos puntos de control de la iniciación de la síntesis proteica en los organismos superiores. Este factor tiene tres subunidades α, β y γ. El eIF-2α es fosforilado por al menos cuatro proteína kinasas que se activan en situaciones de estrés metabólico o cuando el gasto energético necesario para la síntesis proteica podría ser letal para la célula; estas situaciones incluyen todas aquellas en las que es necesario el ahorro de glucosa y de aminoácidos: infección viral, hiperosmolaridad, choque térmico, etc. La proteína kinasa R (PKR) es particularmente importante en este contexto, ya que se activa por virus y supone un mecanismo de defensa del huésped que hace disminuir la síntesis proteica, inhibiendo la replicación viral. El eIF-2α fosforilado se une firmemente e inactiva al factor eIF-2β implicado en el reciclado de GTP-GDP, con lo que se previene la formación del complejo de preiniciación 43S y se bloquea la síntesis de proteínas.

En la formación del complejo 43S la caperuza de metil-guanosín trifosfato (m^7G), presente en el extremo 5' terminal de la mayoría de los mRNA de los eucariotas, facilita la unión del mRNA a dicho complejo de preiniciación. El eIF-4F es el factor encargado de unirse a la caperuza del mRNA. Este factor, constituido a su vez por varios componentes 4A, 4B, 4E y 4G, se encarga de unir y reducir la estructura secundaria del extremo 5' del mRNA a través de sus actividades ATPasa y helicasa dependientes de ATP, como se describe más adelante de manera detallada. Así, la asociación del mRNA al complejo 43S necesita la hidrólisis de ATP para formar el complejo 48S. El eIF-3 es otro factor clave, ya que se une al componente 4G y sirve de enlace entre el complejo de preiniciación y la subunidad 40S del ribosoma. A continuación de la asociación del complejo 43S con la caperuza del mRNA y de la reducción o "fusión" del extremo 5' del mRNA, el complejo "escanea" el mRNA hasta encontrar el codón de iniciación **AUG** más cercano, aunque el codón de iniciación preciso está determinado por la presencia de una secuencia consenso, denominada de Kozak, que rodea a AUG:

```
   -3  +1   +4
GCCA/GCCAUGG
```

En esta secuencia siempre hay una purina en las posiciones -3 y +4.

Para la síntesis proteica es también necesaria la presencia de la proteína de unión a la cola de poli-A del mRNA, llamada Pab 1p. La cola de poli-A estimula el reclutamiento de la subunidad 40S del mRNA a través de una serie de interacciones complejas. Así, la cola de poli-A, unida a la proteína Pab 1p, interacciona con el factor eIF-4G, que a su vez se une al eIF-4E y condiciona la unión a la estructura de la caperuza anteriormente mencionada. De esta manera, la cola de poli-A y la caperuza de guanina trifosfato ejercen un efecto sinérgico en la síntesis proteica en los mamíferos y en otros organismos eucariotas.

La unión de la subunidad 60S al complejo de iniciación 48S implica la hidrólisis de GTP, unido al

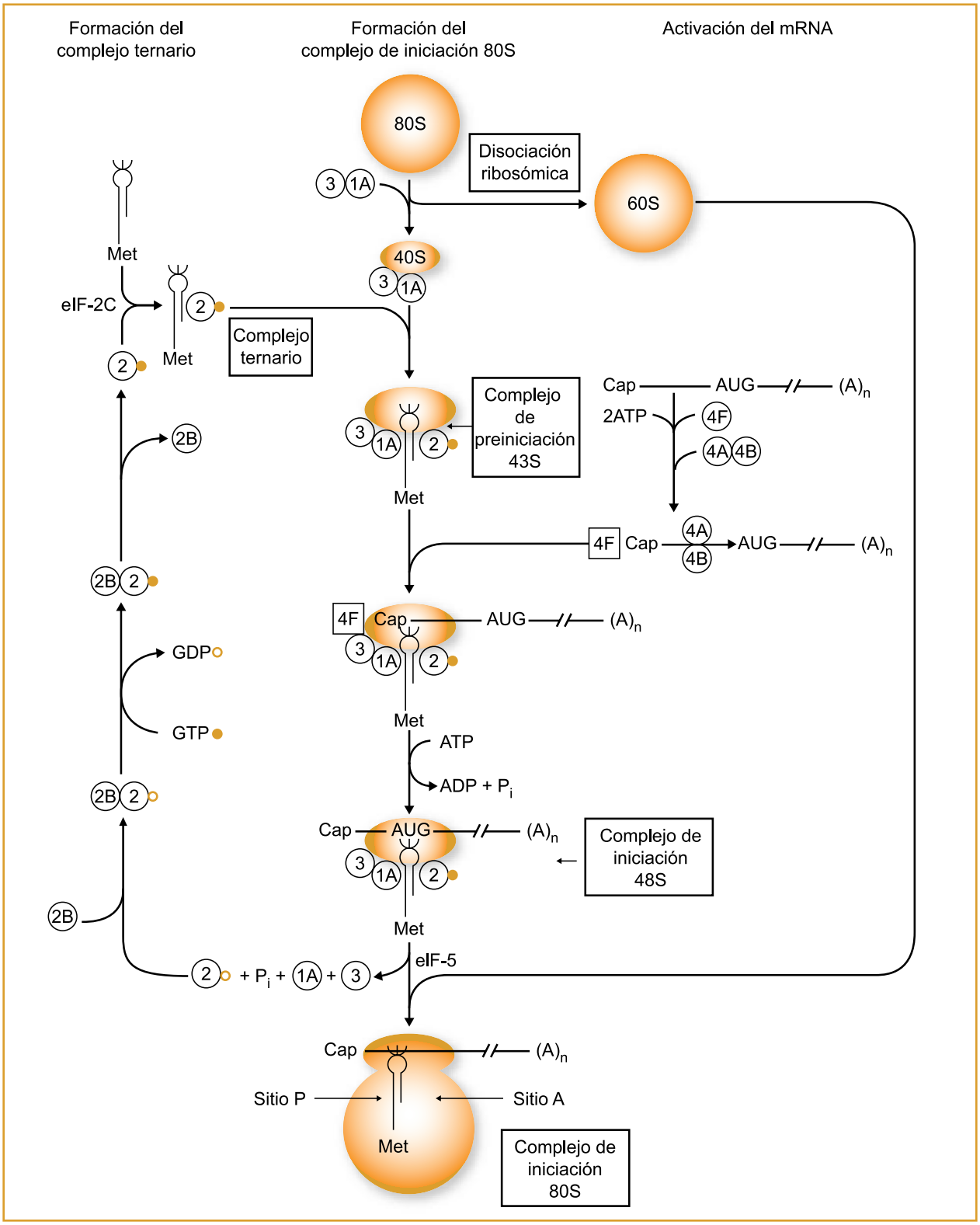


Figura 4. *Esquema de la etapa de iniciación de la síntesis proteica (modificado de Murray* et al. *Harper's Illustrated Biochemistry, 26th ed., 2003).*

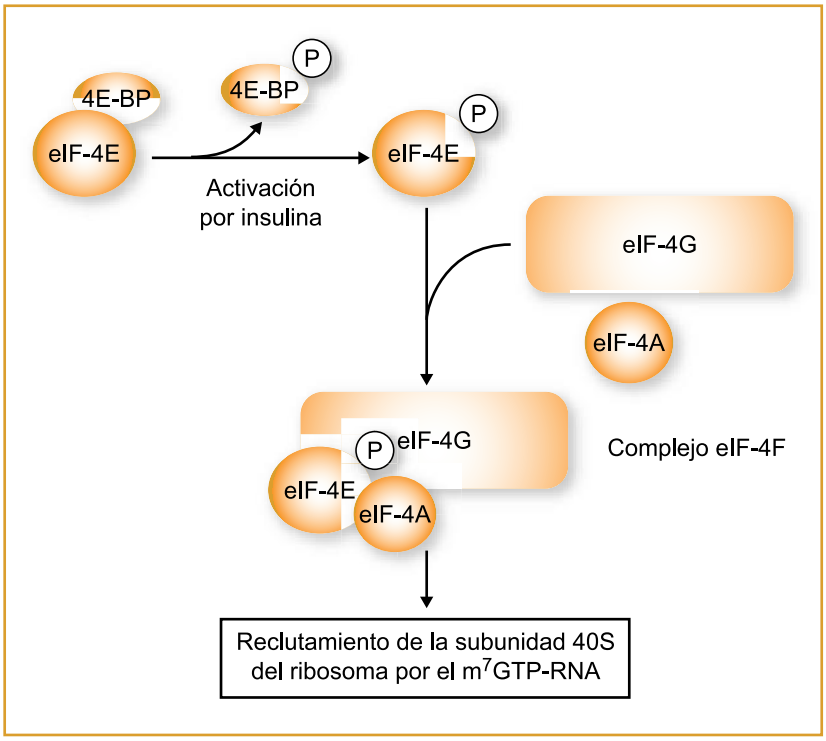


Figura 5. *Activación del eIF-4E por insulina y formación del complejo eIF-4E con la caperuza del mRNA.*

factor eIF-2, por el IF-5. Esta reacción da lugar a la liberación de los factores de iniciación unidos al complejo 48S, que son reciclados, y la rápida asociación de las subunidades 40S y 60S para formar el ribosoma 80S. En este punto, el met-tRNA^{i} se coloca sobre el sitio P del ribosoma y puede comenzar la fase de elongación.

El complejo eIF-4F es muy importante en el control de la traducción de proteínas. El eIF-4F es un complejo formado por el eIF-4E, que se une a la caperuza m^{7}G del extremo 5' del mRNA, y por el eIF-4G, que sirve como proteína de andamiaje. Además, como se ha señalado anteriormente, el eIF-4E se une también al eIF-3, que permite el enlace del complejo con la subunidad 40S, y a los factores eIF4-A y eIF-4B, un complejo de dos helicasas responsables del desenrollamiento del mRNA.

El paso limitante en la traducción es el reconocimiento de la caperuza del mRNA por el eIF-4E. Este proceso está regulado a dos niveles; el primero por insulina y por factores de crecimiento que fosforilan el eIF-4E, aumentando la afinidad de este factor por la caperuza del mRNA. La fosforilación está mediada por una vía de MAP kinasa (*ver Capítulo 1.5*). El segundo nivel de regulación del eIF-4E incluye un conjunto de proteínas descubiertas recientemente capaces de inactivarlo y que incluyen 4E-BP1, también conocida como PHAS-1, y las proteínas relacionadas 4E-BP2 y 4E-BP3. La unión de la BP1 al factor eIF-4E impide que éste se una al componente eIF-4G para formar el complejo 4F. De esta manera la 4E-BP1 inhibe la traducción. La insulina y otros factores de crecimiento fosforilan la proteína BP1 en cinco lugares diferentes, lo que provoca su disociación del eIF-4E, no pudiendo volver a unirse a él hasta que no ocurre la desfosforilación completa. Estos efectos de activación del eIF-4E explican en parte el marcado aumento de la síntesis proteica mediada por insulina y otros factores de crecimiento en el hígado, el tejido adiposo y el tejido muscular **(Figura 5)**.

Como se ha indicado anteriormente, los ribosomas eucarióticos son reclutados por la caperuza del extremo 5' y el codón de iniciación se encuentra por "escaneado" del mRNA hacia el extremo 3'. La interacción de la caperuza con la cola de poli-A a través de la Pab 1p y del factor eIF-4F hace que los dos extremos del mRNA estén cercanos y que éste tenga una configuración circular. De esta forma, inmediatamente después de que un ribosoma finaliza una ronda de traducción, las subunidades están situadas adecuadamente para reiniciar otro ciclo.

No todos los polipéptidos de los seres superiores están codificados por un marco de lectura abierta que comienza con la secuencia AUG más próxima al extremo 5'. En algunos casos, se encuentran secuencias cortas de no más de 30 nucleótidos entre dos señales AUG consecutivas, denominadas uORF (***u**pstream **O**pen **R**eading **F**rame*). En estos casos, cuando la traducción comienza en la primera secuencia AUG, las uORF actúan como señales reguladoras que permiten obtener un polipéptido más largo de lo habitual. Otro ejemplo de iniciación de la traducción en lugares más abajo de

la señal AUG habitual lo constituyen los genes que tiene secuencias AUG en lugares internos corriente abajo denominadas IRES (***I**nternal **R**ibosome **E**ntry **S**ites*). Los IRES son señales de RNA que funcionan como los sitios de unión de los ribosomas en los procariotas de manera que reclutan la subunidad pequeña del ribosoma en un sitio interno del mRNA; así, de un mismo mRNA se pueden obtener varios polipéptidos de longitud y secuencia diferentes, representando otro mecanismo regulador de la síntesis proteica.

2.4.2. *Elongación*

La elongación es un proceso cíclico que tiene lugar en el ribosoma, por el cual un aminoácido se une a la cadena proteica naciente en cada ciclo. La secuencia peptídica se determina por el orden de los codones en el mRNA. Como en el caso de la iniciación, hay varios pasos y están implicados varios factores proteicos, denominados factores de elongación (EF):

1. Unión del aminoacil-tRNA al sitio A del ribosoma.

2. Formación del enlace peptídico.

3. Translocación.

La **Figura 6** resume el proceso de elongación de la cadena polipeptídica.

En el ribosoma formado durante la etapa de iniciación, el sitio A (aminoacilo o aceptor) está libre y el sitio P está ocupado por el met-tRNA^{i}. La unión de un aminoacil-tRNA específico requiere el reconocimiento del codón apropiado. El factor de elongación EF1A forma un complejo ternario con el GTP y el aminoacil-tRNA entrante, lo que permite su unión al sitio A y la liberación posterior de EF1A-GDP y fosfato. La hidrólisis de GTP es catalizada por un sitio activo del ribosoma y el EF1A-GDP se recicla hasta EF1A-GTP con la ayuda de otros factores proteicos solubles y de GTP.

El grupo α-amino del nuevo aminoácido que lleva el aminoacil-tRNA en el sitio A provoca un ataque nucleofílico sobre el grupo carboxilo del peptidil-tRNA que ocupa el sitio P del ribosoma (sitio peptidilo o polipeptídico). Esta reacción está catalizada por la peptidiltransferasa, un componente del rRNA 28S de la subunidad 60S del ribosoma. Éste es otro ejemplo de la importancia del ribosoma y del rRNA en la síntesis proteica. Como el aminoácido está activa-

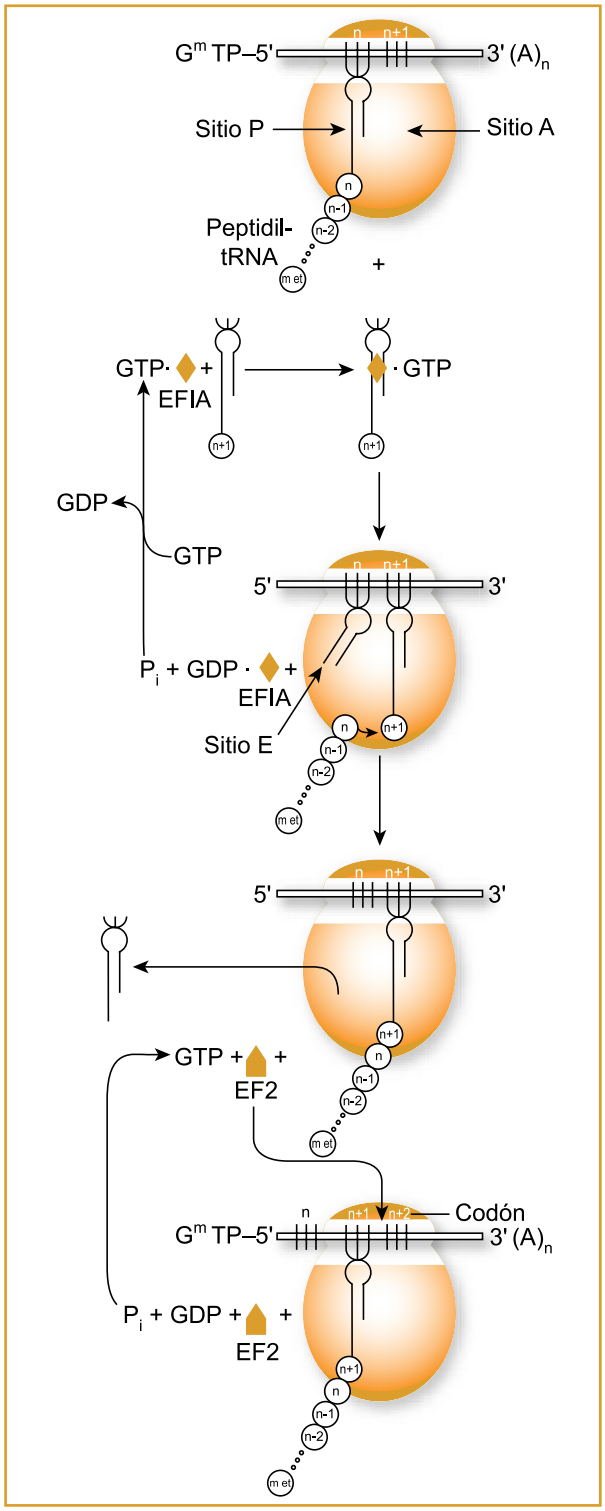


Figura 6. *Esquema de la etapa de elongación de la síntesis proteica. EFIA: factor de elongación IA; EF2: factor de elongación 2 (modificado de Murray* et al. *Harper's Illustrated Biochemistry, 26th ed., 2003).*

do, en forma de aminoacil-tRNA, para esta reacción no se necesita ningún gasto energético adicional. El producto final de la reacción es el crecimiento de la cadena polipeptídica en el tRNA unido al sitio A. Al mismo tiempo, el tRNA que estaba unido al sitio P queda libre.

Este tRNA desacilado está unido por el anticodón al sitio P en un extremo y por la secuencia CCA de la cola al sitio E de la subunidad grande del ribosoma. En este punto, el factor de elongación 2 (EF2) se une y desplaza el peptidil-tRNA del sitio A al sitio P. A su vez, el tRNA desacilado abandona el ribosoma. El complejo EF2-GTP se hidroliza hasta EF2-GDP, desplazando hacia delante el mRNA un codón y dejando el sitio A del ribosoma libre para ser ocupado por otro complejo ternario de aminoacil-tRNA-EF1A-GTP y comenzar un nuevo ciclo de elongación.

Los ribosomas eucarióticos pueden incorporar hasta seis aminoácidos por segundo, mientras que los organismos procarióticos incorporan hasta 18 aminoácidos por segundo. Todo ello lleva consigo un gasto energético muy elevado. Así, el requerimiento energético para la formación de un enlace peptídico incluye el equivalente de la hidrólisis de dos moléculas de ATP hasta ADP y de dos moléculas de GTP hasta GDP o, lo que es igual, la hidrólisis de cuatro enlaces fosfato de alta energía. La carga de la molécula de tRNA con un aminoácido requiere la hidrólisis de un ATP hasta AMP, equivalente a la hidrólisis de dos ATP hasta dos ADPs y dos fosfatos. La entrada del aminoacil-tRNA en el sitio A provoca la hidrólisis de un GTP hasta GDP y fosfato, y la translocación del peptidil-tRNA desde el sitio A al P por el EF2 da lugar a la hidrólisis de un GTP hasta GDP.

2.4.3. Terminación

En comparación con la iniciación y la elongación, la etapa de terminación es un proceso simple. La **Figura 7** esquematiza esta etapa.

El proceso de síntesis de la cadena polipeptídica ocurre a una gran velocidad hasta que se alcanza un codón de terminación en el mRNA (UAA, UAG, UGA) en el sitio A del ribosoma. Normalmente, no hay ningún tRNA con un anticodón que reconozca la señal de terminación. El factor de liberación de la cadena polipeptídica (RF1: ***R****eleasing* ***F****actor* ***1***) reconoce la existencia de un codón de parada en el sitio A; este factor está unido a otro factor denominado RF3, que, a su vez, está ligado a GTP. Este complejo, conjuntamente con la peptidiltransferasa, promueve la hidrólisis del enlace entre el péptido y el tRNA que ocupa el sitio P. Después de la hidrólisis se libera la proteína y el tRNA del sitio P, y el ribosoma 80S se disocia en sus dos subunidades de 40S y 60S.

3. Síntesis de proteínas por los polisomas y tráfico intracelular proteico

Muchos ribosomas pueden traducir una misma molécula de mRNA simultáneamente. A causa de su tamaño relativamente grande, los ribosomas no pueden unirse a un mRNA menor de 35 nucleótidos. Los ribosomas múltiples unidos a una misma molécula de mRNA forman un **polirribosoma** o **polisoma**. El número de ribosomas unidos a una misma molécula de mRNA es proporcional a su longitud.

La mayoría de las proteínas deben viajar desde el citoplasma a muchos lugares diferentes, dentro o fuera de las células, para llevar a cabo su función. Algunas son destinadas a formar parte de los orgánulos celulares, otras al citosol, otras van a la membrana celular y otras son exportadas al exterior. Para alcanzar su lugar de destino, las proteínas contienen usualmente una secuencia señal que les permite encontrarlo **(Tabla 3)**. Algunas mutaciones en estas secuencia señal dan lugar a la aparición de determinadas patologías.

Los polisomas pueden estar libres en el citoplasma celular o asociados al retículo endoplásmico, dando la apariencia típica rugosa a este sistema membranoso. Las proteínas sintetizadas por los polisomas libres citoplasmáticos se utilizan para llevar a cabo funciones intracelulares. Las proteínas sintetizadas por los polisomas adheridos al retículo endoplásmico son exportadas a otros lugares de la célula y algunas de ellas son procesadas en el aparato de Golgi, antes de ser segregadas como zimógenos, tal y como se detalla más adelante. Así, las vías biosintéticas de proteínas pueden considerarse dentro de un gran sistema que se subdivide en dos ramas **(Figura 8)**:

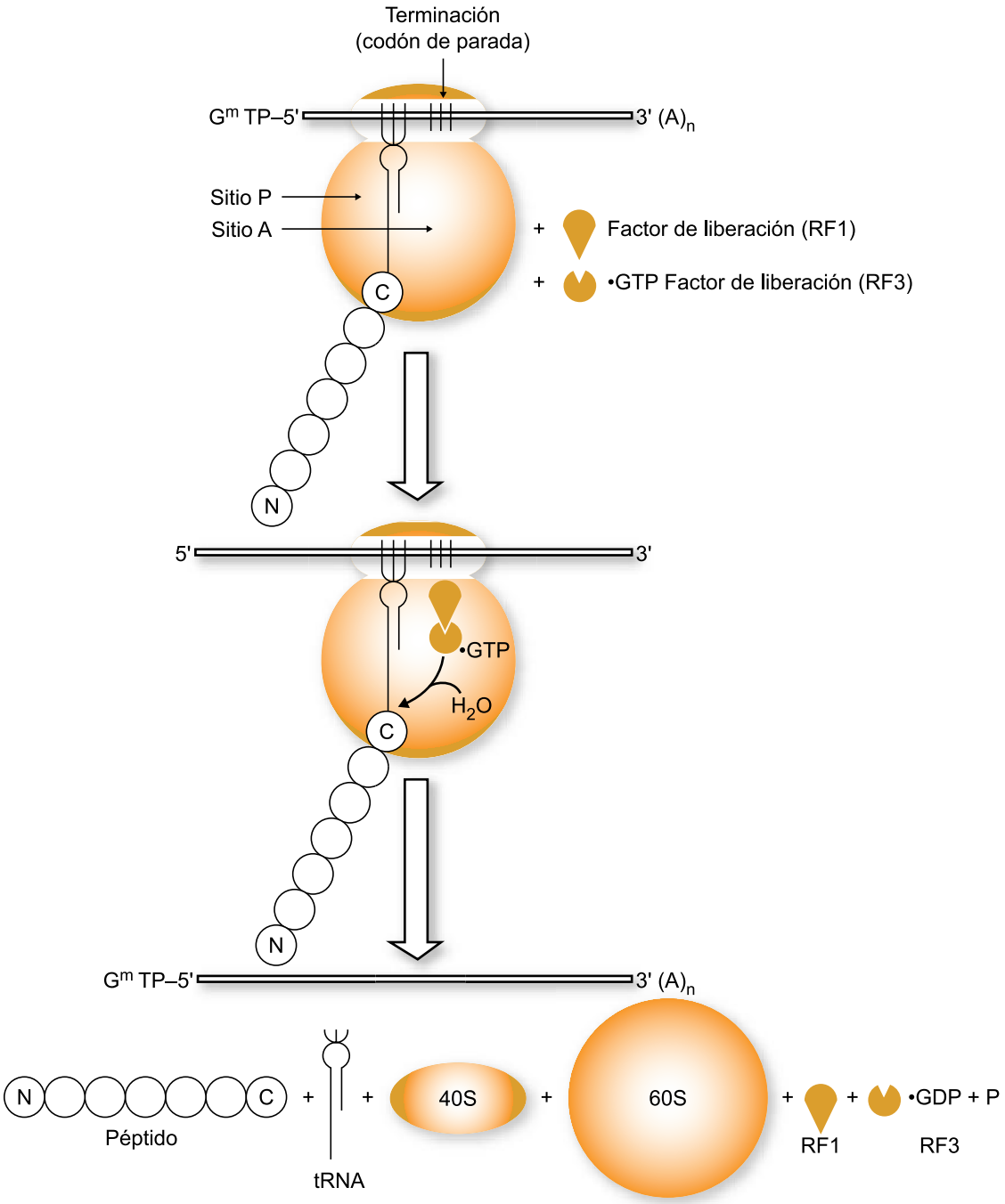


Figura 7. *Esquema de la etapa de terminación de la síntesis proteica (modificado de Murray* et al. *Harper's Illustrated Biochemistry, 26th ed., 2003).*

Tabla 3. SECUENCIAS PEPTÍDICAS Y COMPUESTOS QUE DIRIGEN EL TRÁFICO DE LAS PROTEÍNAS HASTA LOS ORGÁNULOS DE DESTINO

Secuencia diana o compuesto	Orgánulo de destino
Péptido señal	Membrana del retíc. endoplásm.
Secuencia amino terminal KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu)	Superficie luminar del retículo endoplásmico
Secuencia amino terminal (20-80 aminoácidos)	Matriz mitocondrial
Señal de localización nuclear (NLS) (p. ej., Pro_2-Lys_2-Ala-Lys-Val)	Núcleo
Secuencia diana de la matriz peroxisomal (PTS) (p. ej., Ser-Lys-Leu)	Peroxisomas
Manosa-6-fosfato	Lisosoma

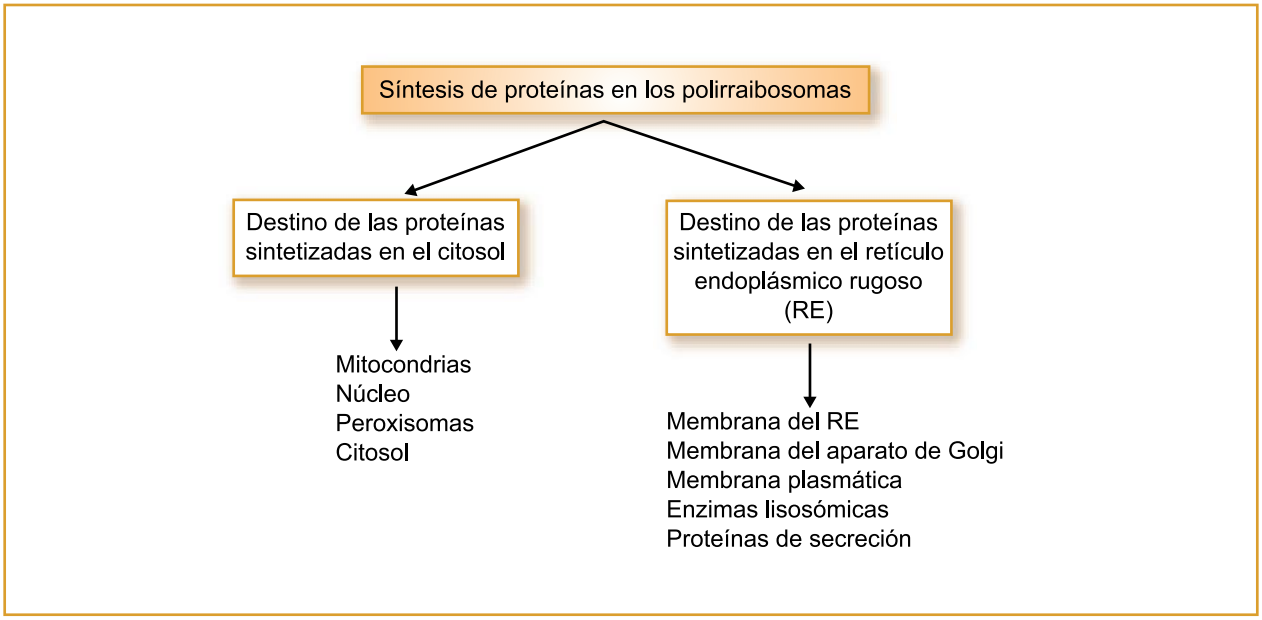


Figura 8. *Destino celular de las proteínas sintetizadas en los polisomas libres y en el retículo endoplásmico rugoso.*

a) La síntesis citosólica llevada a cabo en los polisomas libres, que conduce a la producción de proteínas destinadas a las mitocondrias, el núcleo y los peroxisomas, sí lleva señales específicas, pero las proteínas que van al propio citosol carecen de ellas.

b) La síntesis realizada en los polisomas asociados al retículo endoplásmico, que conduce a la producción de las proteínas para el propio retículo endoplásmico, la membrana del aparato de Golgi, la membrana plasmática, las enzimas lisosomales y las proteínas de secreción.

En esta segunda rama, todas las proteínas acceden al retículo endoplásmico mediante un péptido señal común. Por otra parte, las proteínas destinadas a la membrana plasmática o a la secreción no tienen ninguna secuencia señal particular y encuentran su destino por defecto, mientras que las que

Tabla 4. CARACTERÍSTICAS FUNDAMENTALES DE LA IMPORTACIÓN DE PROTEÍNAS POR LOS ORGÁNULOS CELULARES

- La importación de proteínas por los orgánulos celulares ocurre en tres etapas: reconocimiento, translocación y maduración
- Las secuencias diana de la proteína son reconocidas en el citosol o en la superficie del orgánulo
- La proteína tiene que estar desplegada para que ocurra el proceso de translocación, estado mantenido por unas proteínas acompañantes denominadas chaperonas
- El paso de las proteínas a través de las membranas necesita energía y chaperonas situadas en lugares transmembranales
- Los ciclos de unión y liberación proteica de las chaperonas dan lugar al impulso de la cadena polipeptídica a través de la membrana
- Otras proteínas dentro del orgánulo catalizan el plegamiento de la nueva proteína, uniendo a menudo cofactores u oligosacáridos, y ensamblándolas como monómeros u oligómeros activos

se integran en el retículo endoplásmico, el aparato de Golgi y los lisosomas disponen de señales específicas de destino.

La **Tabla 4** resume los aspectos fundamentales de la importación de proteínas por los orgánulos celulares.

3.1. Biosíntesis y tráfico de proteínas sintetizadas en los polisomas libres

3.1.1. Síntesis y transporte de proteínas mitocondriales

Las mitocondrias contienen muchas proteínas; 13 de ellas, la mayoría componentes de la cadena respiratoria, son codificadas por el propio DNA mitocondrial y sintetizadas por su maquinaria específica ribosómica. Sin embargo, la mayor parte de las proteínas mitocondriales son codificadas por genes nucleares y se sintetizan por polisomas libres en el citosol desde donde son importadas.

Las proteínas de la matriz mitocondrial deben atravesar tanto la membrana externa como la interna hasta alcanzar su destino. A este proceso se le denomina translocación. Estas proteínas tienen una secuencia líder de entre 20 y 80 aminoácidos, con numerosos aminoácidos cargados positivamente, como la lisina y la arginina, responsable de alcanzar su destino. La translocación ocurre después de que se haya completado la traducción, si bien las proteínas interaccionan con otras proteínas citosólicas denominadas chaperonas que intervienen en su plegamiento (*ver apartado 4 de este mismo Capítulo*).

Se conocen dos complejos de translocación situados en la membrana externa e interna, denominados TOM (***T****ranslocation* ***O****uter* ***M****embrane*) y TIM (***T****ranslocation* ***I****nner* ***M****embrane*), respectivamente. Cada uno de ellos está formado por diversas proteínas. Algunas de ellas actúan como receptores para las nuevas proteínas y otras como componentes de los poros de las membranas a través de las cuales pasan dichas proteínas. Para ello, deben hacerlo en un estado desplegado, lo cual es posible con la ayuda de varias chaperonas unidas a ATP.

La matriz mitocondrial tiene carga neta negativa gracias al potencial protónico generado a través de la membrana interna durante el transporte electrónico derivado del funcionamiento de la cadena transportadora de electrones asociado a la respiración celular (*ver Capítulo 1.2*). Esta carga negativa puede ayudar a la secuencia líder cargada positivamente para que la proteína alcance la matriz mitocondrial. La presecuencia es eliminada por la peptidasa procesadora de proteínas de la matriz (MPP: ***M****atrix* ***P****rocessing* ***P****eptidase*). Posteriormente, el contacto con otras chaperonas completa el proceso de plegamiento de las proteínas.

Ciertas proteínas se insertan en la membrana externa, proceso facilitado por el complejo TOM.

Otras alcanzan el espacio intermembranar y otras se insertan en la membrana mitocondrial interna. Además, algunas proteínas de la matriz regresan a la membrana interna o al espacio intermembranar, debido a la existencia de dos secuencias señal, una que les conduce a la matriz y otra responsable de la nueva localización. Además, otras proteínas mitocondriales, como el citocromo *c*, que se localiza en la membrana interna, no contienen presecuencias conocidas, y otras contienen presecuencias internas.

3.1.2. Transporte nuclear de proteínas

El transporte de moléculas desde el citosol al núcleo y viceversa implica a más de 1.000.000 de macromoléculas por minuto. En estas biomoléculas se incluyen proteínas ribosomales, subunidades de los ribosomas, histonas, factores de transcripción y moléculas de mRNA. El transporte es bidireccional y tiene lugar fundamentalmente a través de los poros nucleares (NPC: ***N****uclear* ***P****ore* ***C****omplexes*), unas estructuras complejas compuestas por más de 100 proteínas. El diámetro de los NPC oscila entre 9 y 28 nm, por lo que a su través pueden pasar biomoléculas tan grandes como 40kDa por procesos de difusión. No obstante, también pueden pasar moléculas mayores, no a través de los NPC, sino utilizando sistemas de translocación específicos.

Las proteínas importadas por el núcleo tienen una señal de localización nuclear (NLS: ***N****uclear* ***L****ocalization* ***S****ignal*). Dependiendo del tipo de NLS, la proteína interacciona con una familia de proteínas solubles denominadas importinas, y el complejo bloquea el NPC a modo de dique. Un ejemplo de NLS es la secuencia $(Pro)_2$-$(Lys)_4$-Ala-Lys-Val, muy rica en lisina.

Otra familia de proteínas, llamada **Ran**, desempeña un papel crucial en la interacción del complejo importina-proteína con el NPC y en la translocación a su través. Las proteínas Ran son estructuras monoméricas ligadas a GTP o GDP con actividad GTPasa. Asimismo, están reguladas por factores que intercambian nucleótidos de guanina (GEF: ***G****uanine nucleotide* ***E****xchange* ***F****actors*) y por proteínas activadoras de las Ran (GAP: ***G****uanine-****A****ctivating* ***P****roteins*). Las proteínas Ran ligadas a GDP están en el citoplasma, mientras que las ligadas a GTP lo están en el núcleo, por lo que la asimetría entre estos dos compartimentos parece ser importante para el paso de las proteínas al interior del núcleo. Una vez que las proteínas han atravesado los NPC, las importinas se reciclan al citoplasma **(Figura 9)**.

Unas proteínas similares a las importinas, denominadas **exportinas**, son las encargadas de enviar proteínas desde el núcleo al citoplasma utilizando también proteínas Ran. En este caso, las proteínas llevan unas señales denominadas de exportación nuclear (NES: ***N****uclear* ***E****xportation* ***S****ignal*).

3.1.3. Transporte de proteínas a los peroxisomas

Se han identificado al menos dos secuencias encargadas de conducir las proteínas sintetizadas en los polisomas libres a la matriz de los peroxisomas (PTS: ***P****eroxisomal-matrix* ***T****argeting* ***S****equences*). Tanto las señales PTS1 como las PTS2 interaccionan con proteínas receptoras específicas y, a su vez, con un receptor de la membrana. La señal PTS1 tiene un tripéptido Ser-Lys-Leu localizado en el extremo carboxilo; esta señal se encuentra, por ejemplo, en la catalasa. La señal PTS2 consiste en 26-36 aminoácidos que se eliminan al entrar la proteína en la matriz; varias tiolasas llevan esta señal. Las proteínas de la membrana de los peroxisomas llevan otro tipo de señales y, al contrario que para la importación de las proteínas de la matriz, no se necesita ATP. Varias enfermedades, como el síndrome de Zellweger, la adrenoleucodistrofia neonatal y la enfermedad de Refsum, son ocasionadas por fallos en varias proteínas implicadas en la biogénesis de los peroxisomas.

3.2. Síntesis y tráfico de proteínas en el retículo endoplásmico

El flujo de ciertas proteínas desde el retículo endoplásmico a la membrana plasmática, conocido como "flujo mayoritario", ya que no es selectivo, tiene lugar sin la necesidad de que existan determinadas secuencias diana, es decir, éste es el flujo que ocurre por defecto. Por otra parte, la inserción de proteínas residentes en el propio retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi es dependiente de la existencia de señales específi-

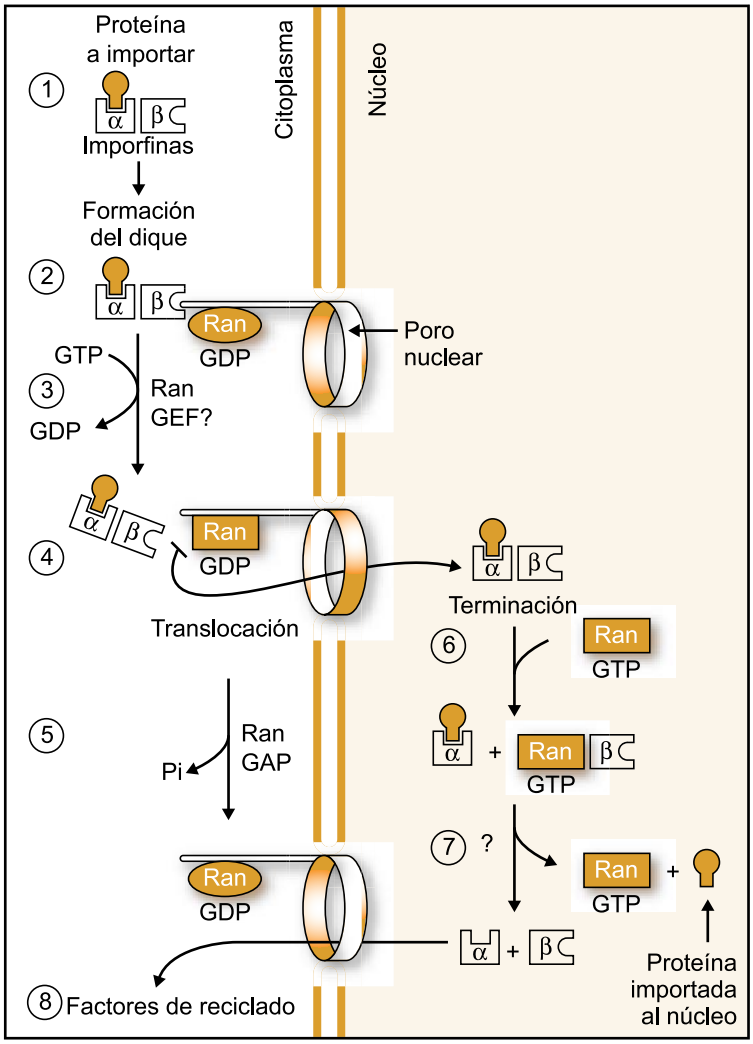


Figura 9. *Transporte nuclear de proteínas. GAP: proteínas activadoras de las Ran; GEF: factor de intercambio de nucleótidos de guanina; Ran: familia de GTPasas nucleares monoméricas del tipo de las proteínas Ras y Rab α y β: proteínas de reciclado de unión a la proteína a importar y a las proteínas Ran denominadas importinas (modificado de Goldfarb DS.* Science *1997).*

cas (KDEL o secuencias *halt* de detención de la transferencia para el retículo endoplásmico). Del mismo modo, el transporte de muchas enzimas a los lisosomas depende de señales manosa-6-fosfato y el flujo de entrada a gránulos de secreción también necesita una señal específica. La **Figura 10** muestra el flujo de proteínas de membrana desde el retículo endoplásmico hasta la superficie celular.

3.2.1. Síntesis de proteínas en polisomas asociados al retículo endoplásmico

Como se ha indicado anteriormente, el retículo endoplásmico es una de las dos ramas implicadas en la síntesis y destino de las proteínas. En esta rama, las proteínas se sintetizan en los polisomas asociados a las membranas del retículo endoplásmico y son translocadas al lumen antes de que salgan hacia otros destinos.

Las proteínas sintetizadas en los polisomas del retículo endoplásmico rugoso tienen una secuencia denominada **péptido señal** en la zona aminoterminal, responsable de la unión al retículo endoplásmico. Así, todos los ribosomas tienen la misma estructura y es el péptido señal de la proteína el que determina si la proteína se transporta al lumen del retículo endoplásmico o queda en el citoplasma. Los péptidos señal están usualmente localizados en el extremo amino terminal, aunque no siempre; contienen 25-35 aminoácidos, siendo normalmente la metionina el aminoácido que lleva el grupo amino terminal; contienen un grupo central de aminoácidos hidrofóbicos, así como uno o más aminoácidos cargados cerca del extremo amino terminal y, usualmente, son hidrolizados en el extremo carboxilo de una alanina por una enzima denominada peptidasa señal.

La **Figura 11** ilustra los principales aspectos de la síntesis y paso de las proteínas desde los polisomas hasta el lumen del retículo endoplásmico.

El mRNA de una proteína codifica una secuencia amino terminal o péptido señal, también denominada presecuencia, secuencia líder, secuencia señal y secuencia de inserción transitoria. Esta proteína se inserta en la membrana del retículo endoplásmico al mismo tiempo que el mRNA está siendo traducido en los polisomas. Conforme el péptido señal emerge de la subunidad 60S del ribosoma,

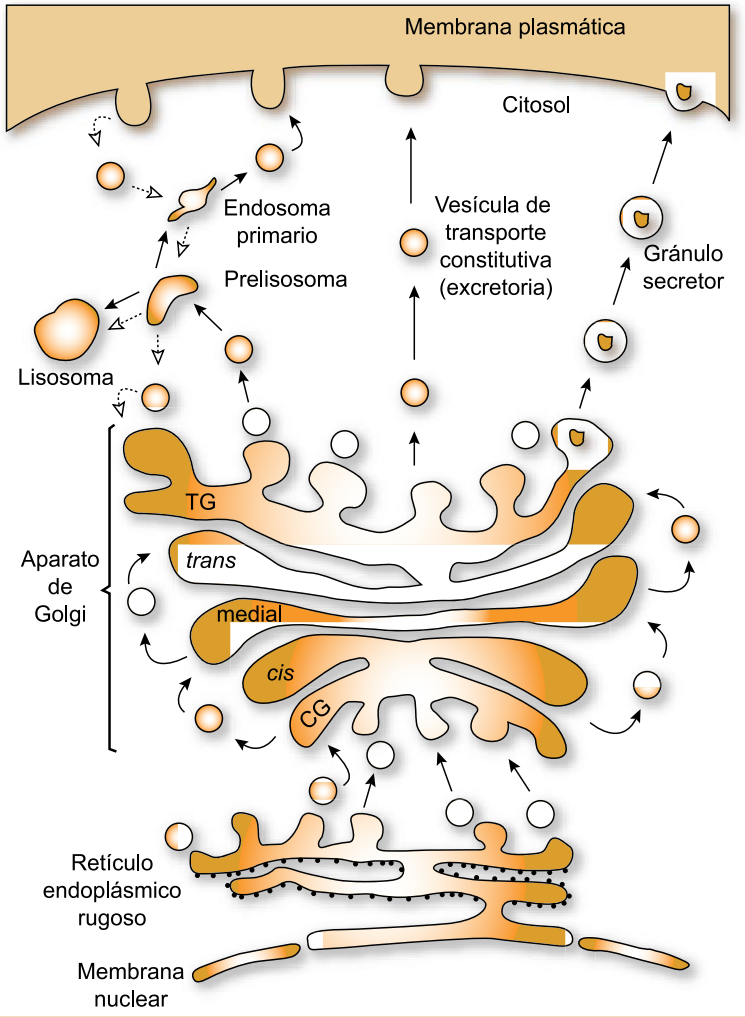


Figura 10. *Tráfico celular de las proteínas sintetizadas desde el retículo endoplásmico. CG: Golgi* cis; *TG: Golgi* trans.

es reconocido por una **partícula de reconocimiento de señales** (SRP: ***S**ignal **R**ecognition **P**article*) que bloquea la traducción después de que se hayan polimerizado alrededor de 70 aminoácidos. Este bloqueo se conoce con el nombre de **parada de la elongación**. La SRP es una partícula ribonucleoproteica formada por un rRNA 7S y siete proteínas. El bloqueo continúa hasta que el complejo SRP-cadena polipeptídica se une al receptor de la SRP (SRP-R o proteína dique: *docking*), una proteína integral de membrana situada en el retículo endoplásmico con dos subunidades α y β. De esta manera, la SRP guía al péptido señal hasta el SPR-R y previene el plegamiento prematuro y expulsión de la proteína al citosol. La subunidad α está unida a GDP, de forma que cuando el complejo SRP-péptido señal interacciona con el receptor se produce un intercambio de GDP por GTP. El SRP-R con GTP tiene una elevada afinidad por la SRP y libera el péptido señal, que se une a la maquinaria de translocación de proteínas presente en el retículo endoplásmico o **traslocón**. La subunidad α hidroliza el GTP hasta GDP y restaura la situación inicial del SRP-R.

El traslocón está formado por una serie de proteínas que forman un canal conductor de proteínas en la membrana del retículo endoplásmico por el cual pasan las proteínas que se están sintetizando. El canal se abre únicamente cuando está presente un péptido señal. La inserción del péptido señal al canal de conducción de proteínas se denomina **inserción cotraduccional**.

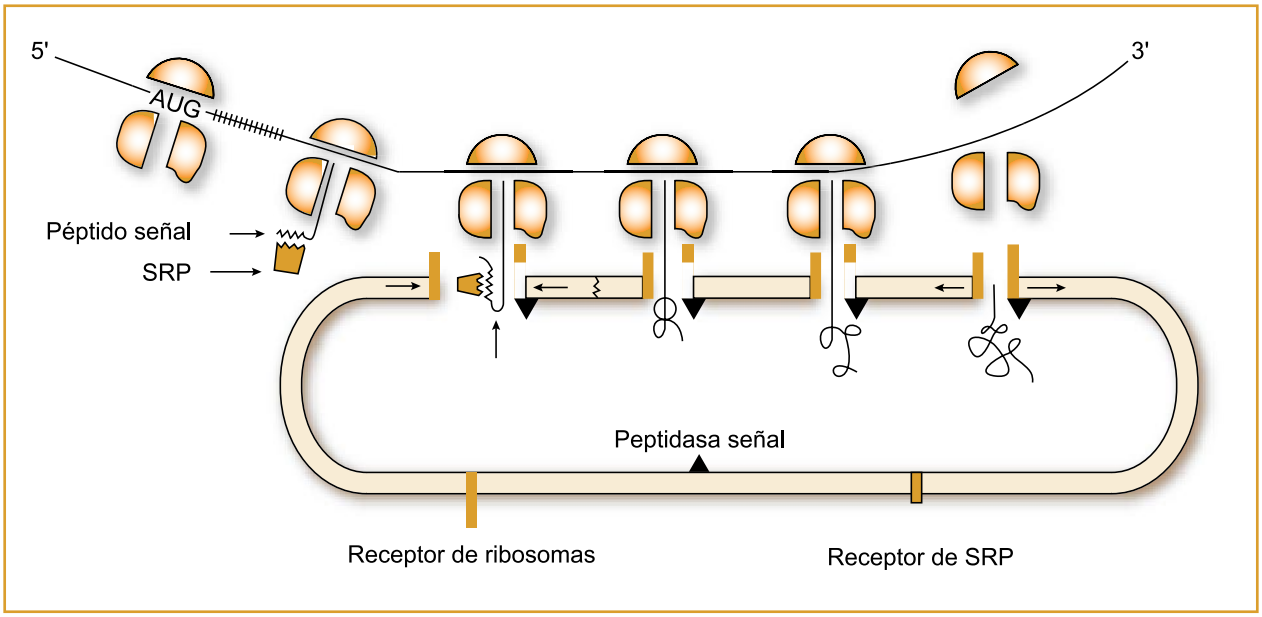


Figura 11. *Síntesis y transporte de proteínas en el retículo endoplásmico. SRP: partícula de reconocimiento de señales.*

El proceso de elongación de la porción restante de la proteína probablemente facilita el paso de la proteína naciente a través de la bicapa lipídica, en tanto en cuanto los ribosomas permanezcan unidos a la membrana del retículo endoplásmico. Es importante que la proteína esté sin plegar antes de que entre en el canal de conducción, ya que, de no ser así, no sería posible el paso a través de él. Los ribosomas permanecen unidos al retículo endoplásmico durante la síntesis de las proteínas que tienen péptidos señales, pero se liberan y disocian en subunidades inmediatamente después de que el proceso finaliza. El péptido señal es hidrolizado por la peptidasa señal, localizada en el lado luminar de la membrana del retículo endoplásmico, y rápidamente degradado por la acción de proteasas.

En algunas ocasiones, como en el caso del citocromo P-450, una proteína integral de la membrana del retículo endoplásmico implicada en la eliminación de agentes xenobióticos en el hígado, la proteína no cruza completamente la membrana del retículo endoplásmico y se queda anclada con su péptido señal intacto. La prevención del paso ocurre por la existencia de otra secuencia señal denominada de parada de la transferencia o *halt-transfer*.

Las proteínas de secreción y las proteínas destinadas a la membrana celular y a otros sistemas membranosos distales del retículo endoplásmico atraviesan completamente la membrana de éste y se descargan en su lumen. Posteriormente, a muchas de ellas se añaden cadenas de N-glicanos mediante un proceso denominado **glicosilación cotraduccional**. A continuación, las proteínas se acumulan en el aparato de Golgi, donde tienen lugar cambios adicionales en las cadenas de glicanos, antes de la distribución final o la secreción.

Existen numerosas evidencias de que las proteínas que contienen mutaciones en los péptidos señal no se insertan en la membrana o no pasan al lumen del retículo endoplásmico. Por otra parte, también hay indicaciones numerosas de que existe un transporte retrógrado desde el retículo endoplásmico hasta el citoplasma para varias proteínas. Estas proteínas incluyen moléculas que no se pliegan adecuadamente y que se degradan por los proteasomas, tal y como se indica más adelante en el apartado 5 de este mismo Capítulo.

3.2.2. Inserción de proteínas en el retículo endoplásmico

Las vías que siguen las proteínas para insertarse en el retículo endoplásmico incluyen: inserción cotraduccional, unión de proteínas sintetizadas en los polisomas libres en el citosol, retención en la membrana interna luminal por secuencias especí-

ficas y transporte retrógrado desde el aparato de Golgi.

En la inserción cotraduccional, la existencia de secuencias de parada de la transferencia, como se ha comentado con anterioridad para el citocromo P-450, explica su incorporación a la membrana del retículo endoplásmico. Un ejemplo de proteína que entra en el retículo endoplásmico espontáneamente, siendo sintetizada por polisomas libres en el citosol es el citocromo *b5*, implicado en la biosíntesis de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (*ver Capítulo 1.13*). Otras proteínas tienen una secuencia KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) en su carboxilo terminal que especifica que tales proteínas se deben unir a la membrana interna del retículo endoplásmico; un ejemplo de estas proteínas es la chaperona BiP (*ver más adelante el apartado 4 de este mismo Capítulo*). En realidad, las proteínas que tiene las secuencias KDEL viajan primero al aparato de Golgi, interaccionan con una proteína receptora y luego retornan incluidas en vesículas al retículo endoplásmico, en donde se disocian del receptor. Finalmente, otras proteínas que no tiene secuencias KDEL, destinadas a las membranas del retículo endoplásmico, viajan también al aparato de Golgi y retornan mediante transporte vesicular al retículo endoplásmico, donde se insertan.

Al igual que ocurre en las membranas del retículo endoplásmico, en donde existen varias vías para la inserción de proteínas, en otras membranas, como las de las mitocondrias y la membrana plasmática, se supone que ocurren circunstancias similares.

3.2.3. N-glicosilación de proteínas en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi

Las glicoproteínas son proteínas que contienen cadenas de oligosacáridos unidas de forma covalente a los aminoácidos de la cadena polipeptídica. La mayor parte de las proteínas de secreción, incluidas las proteínas plasmáticas, excepto la albúmina, son glicoproteínas. Por la naturaleza de la unión entre las cadenas de oligosacárido y la cadena polipeptídica se distinguen tres clases principales de glicoproteínas:

a) Contienen un enlace O-glicosídico que implica un hidroxilo de una serina o de una treonina y un azúcar, por ejemplo N-acetilglucosamina (GlcNAc).

b) Contienen un enlace N-glicosídico en el que participan el nitrógeno amídico de una asparragina (Asn) y el GlcNAc.

c) Contienen un enlace entre el grupo carboxiterminal de la proteína y un oligosacárido a través de un puente de fosforil-etanolamina. El oligosacárido, a su vez, está unido a un fosfolípido de membrana (fosfatidilinositol) por una glucosamina. A esta última clase de glicoproteínas se les denomina glicoproteínas ancladas o unidas a glicosilfosfatidilinositol.

El número de cadenas de oligosacárido unidas a una proteína puede variar entre 1 y 30, siendo muy variable el número de residuos de azúcar en cada cadena. Asimismo, muchas proteínas contienen tanto enlaces O- como N-glicosídicos. En la biosíntesis de enlaces O-glicosídicos participan azúcares activados con nucleótidos tales como UDP-Glu, UDP-Gal, UDP-GlcNAc, etc., y glicosiltransferasas específicas localizadas en el aparato de Golgi. La biosíntesis de las glicoproteínas con enlaces N-glicosídicos tiene lugar en el retículo endoplásmico.

Las mucinas segregadas por numerosos tejidos y órganos tales como el estómago, el páncreas, el intestino delgado, la tráquea y los bronquios, y las glándulas salivares, son proteínas que contienen un elevado número de enlaces O-glicosídicos, junto a secuencias repetidas de aminoácidos del tipo serina, treonina y prolina.

En la síntesis de las glicoproteínas con enlaces N-glicosídicos participa un compuesto de naturaleza isoprenoide denominado dolicol-pirofosfato que lleva asociado un oligosacárido (Dol-P-P-oligosacárido). Esta cadena de oligosacárido tiene generalmente la estructura R-$GlcNAc_2$-Man_9-Glc_3, siendo R la cadena de Dol-P-P; Man: manosa y Glc: glucosa. La estructura del Dol-P-P-oligosacárido se puede observar en la **Figura 12**. El oligosacárido de este compuesto se transfiere en bloque a un residuo de Asn durante la síntesis proteica en el retículo endoplásmico. Todos los N-glicanos tienen un corazón de pentasacárido común. Para formar cadenas ricas en manosa, primero se eliminan los residuos de Glc y algunos de Man en el oligosacárido común aportado por el Dol-P-P; y para formar cadenas oligosacarídicas complejas se eliminan los residuos de Glc y cuatro residuos de Man por glucosidasas presentes en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi. Posteriormente, se

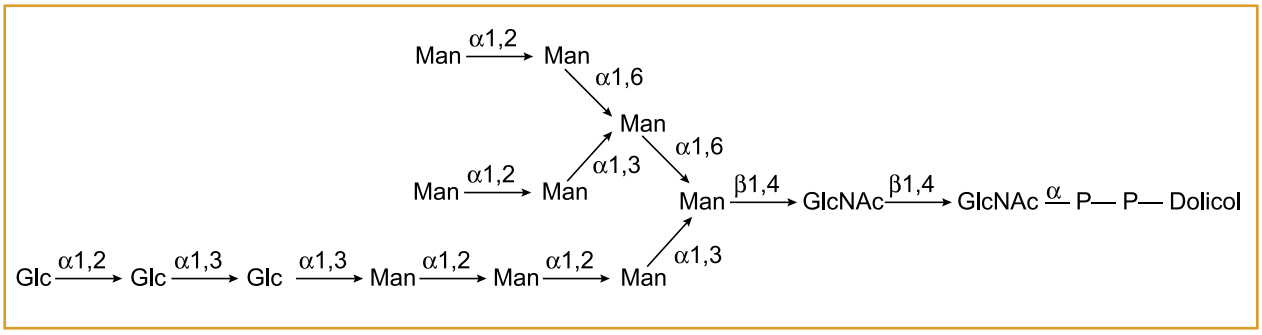


Figura 12. *Estructura del dolicol-pirofosfato-oligosacárido.*

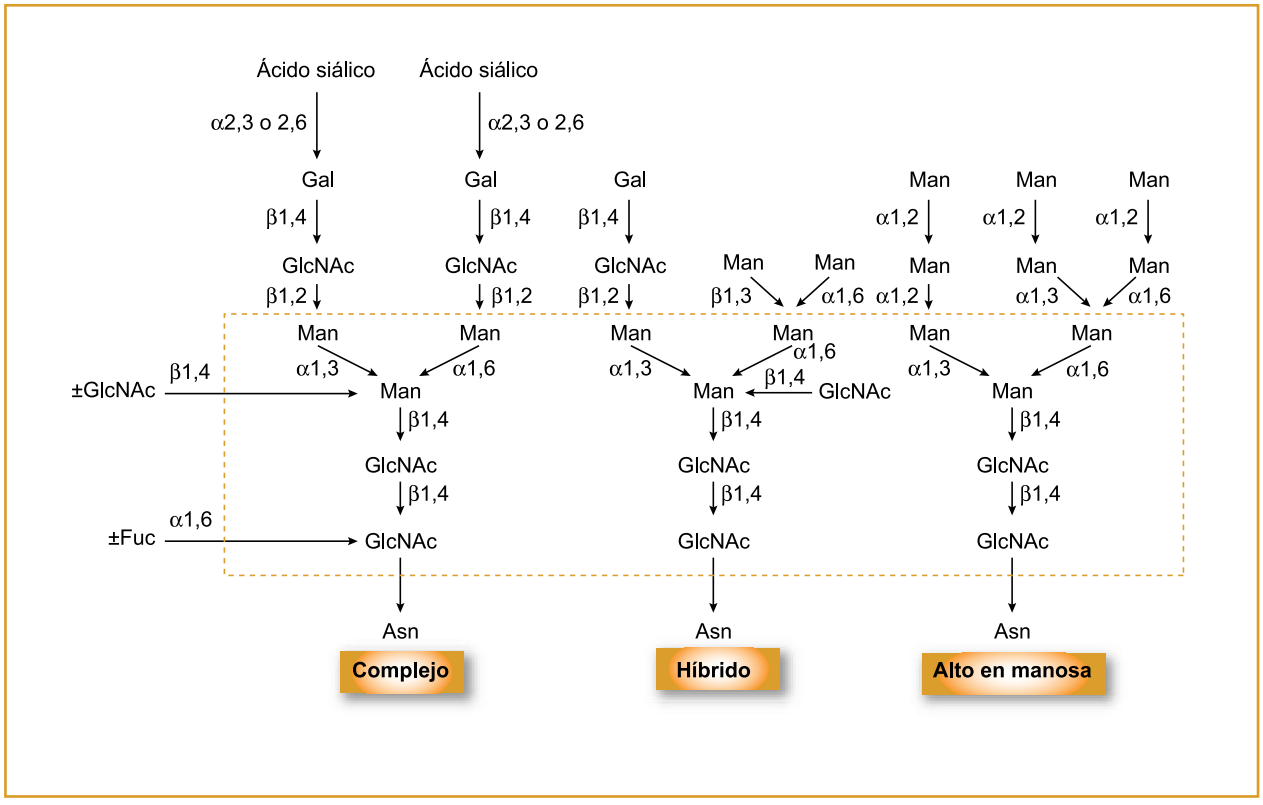


Figura 13. *Estructura del pentasacárido común de los N-glicanos.*

añaden restos de GlcNAc, galactosa (Gal) y ácido N-acetilneuramínico (NeuAc), también denominado ácido siálico. El proceso por el cual las cadenas de N-glicano son parcialmente degradadas y posteriormente remodeladas se conoce con el nombre de **procesamiento de los oligosacáridos**. La **Figura 13** muestra las estructuras de los principales tipos de N-oligosacáridos con el pentasacárido común a todos ellos, y la **Figura 14**, un esquema del procesado de oligosacáridos en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi.

3.3. Transporte vesicular de proteínas e inserción de proteínas en las membranas celulares

La mayoría de las proteínas sintetizadas en el retículo endoplásmico que alcanzan el aparato de Golgi y las membranas celulares lo hacen a través de vesículas. El mecanismo preciso de inserción de estas proteínas en las vesículas no se conoce, pero sí se sabe que, al contrario de lo que ocurre en los procesos de endocitosis celular, estas vesículas no es-

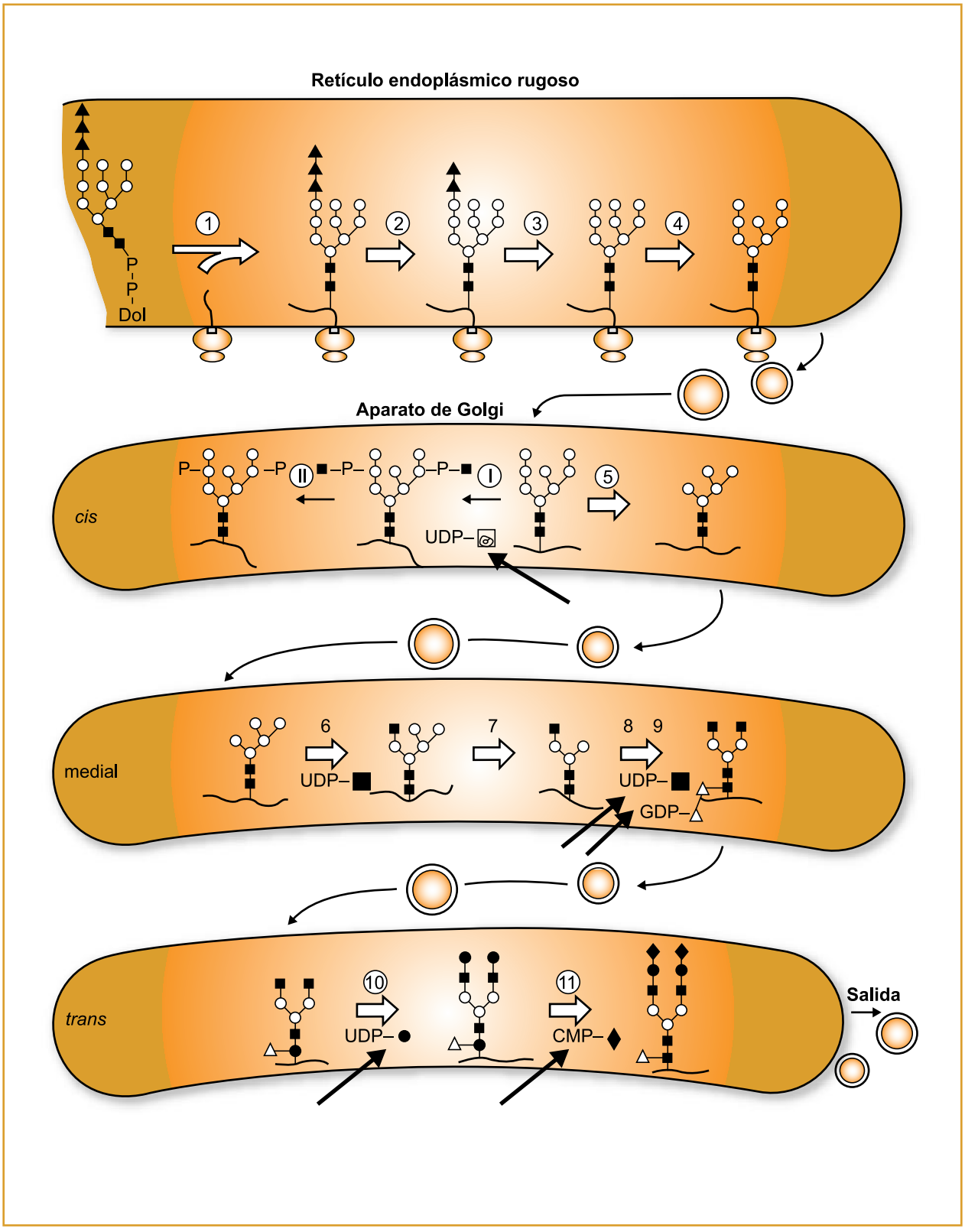


Figura 14. *Procesamiento de glicoproteínas en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi.*

tán tapizadas de clatrina y se denominan **vesículas de transporte**. Las proteínas que alcanzan el Golgi tienen secuencias señal específicas mientras que la mayoría de las proteínas destinadas a la membrana plasmática no parecen tener señales específicas, alcanzando este destino por defecto **(Figura 15)**.

El aparato de Golgi desempeña un papel doble en la biogénesis de las membranas. En primer lugar, está implicado en el procesado de las cadenas de oligosacáridos de las proteínas y de otras N-glicoproteínas y también contiene enzimas que catalizan la O-glicosilación. En segundo lugar, participa en el tráfico de varias proteínas antes de que éstas alcancen su destino definitivo. Todas las partes del Golgi participan en la primera función, mientras que sólo el Golgi *trans*, muy rico en vesículas, lo hace en la segunda.

La formación de vesículas es compleja, estando implicados el GTP, el ATP, varias proteínas citosólicas y de membrana, y otros factores accesorios. El transporte vesicular tiene lugar en ocho etapas, pero básicamente consiste en que cada vesícula de transporte lleva una proteína específica, denominada genéricamente como v-SNARE (receptor de proteínas SNAP: vesicle-soluble N-ethyl maleimide sensitive attachment factor proteins), que interacciona con otra proteína específica complementaria de la membrana, denominada t-SNARE (*target-SNARE*). El ensamblaje de la cubierta implica al factor de ribosilación de ADP (ARF: ***A**DP **R**ibosylation **F**actor*) y al GTP, cuyo complejo recluta las proteínas de la cubierta, procedentes del citosol, denominadas **coatómeros**, para formar una yema. Posteriormente, la yema se contrae en un proceso en el que participan acetil-CoA y ATP, y se completa la formación de la vesícula. El desamblaje de la cubierta lleva apareada la disociación del ARF de la cubierta de coatómeros e hidrólisis de GTP, ocurriendo la fusión, a través de la interacción entre v-SNARES y t-SNARES, y la hidrólisis de ATP catalizada por una ATPasa. Además, se requieren otras proteínas y calcio. Finalmente, tiene lugar un transporte retrógrado para restablecer el ciclo **(Figura 16)**.

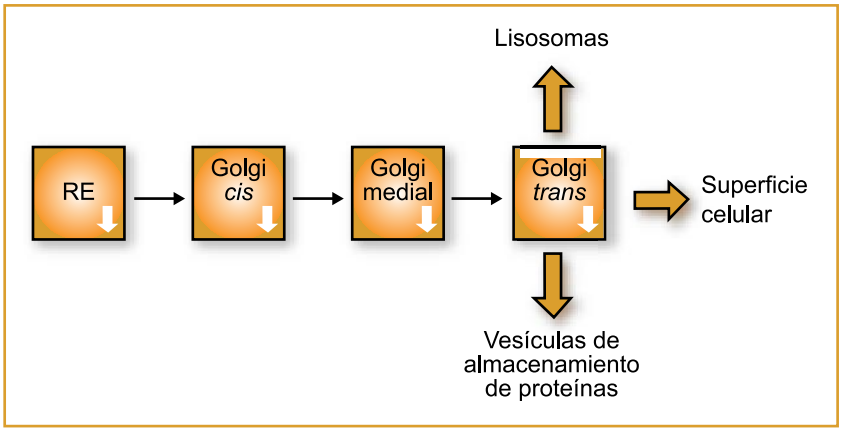


Figura 15. *Flujo de proteínas desde el retículo endoplásmico (RE) hasta la membrana plasmática (modificado de Pfeffer SR, Rothman JE.* Annu Rev Biochem *1987).*

4. Plegamiento de las proteínas

Las cadenas polipeptídicas sintetizadas en los ribosomas no tienen una estructura espacial definida. Sin embargo, la funcionalidad biológica de las proteínas está asociada a una conformación espacial característica, que se basa en el establecimiento de enlaces débiles intramoleculares. Esta conformación espacial está predeterminada por la secuencia de los aminoácidos en la cadena polipeptídica y no requiere información adicional, porque en la mayor parte de las ocasiones se trata de la estructura más favorecida energéticamente.

Para adquirir la conformación espacial correcta **(estado nativo)**, las cadenas polipeptídicas desplegadas **(estado desnaturalizado)** tienen que "seleccionar" dicha estructura entre una enorme gama de conformaciones incorrectas. Esta selección se lleva a cabo en menos de un segundo para muchas proteínas y en menos de un milisegundo para algunas. Ello exige, lógicamente, la existencia de mecanismos que faciliten esta selección. Sin la ayuda de estos mecanismos, las cadenas polipeptídicas tendrían que explorar todas las conformaciones espaciales posibles hasta encontrar la estructura espacial correcta, tarea que podría requerir billones de años.

El plegamiento adecuado de las cadenas polipeptídicas para adquirir la conformación

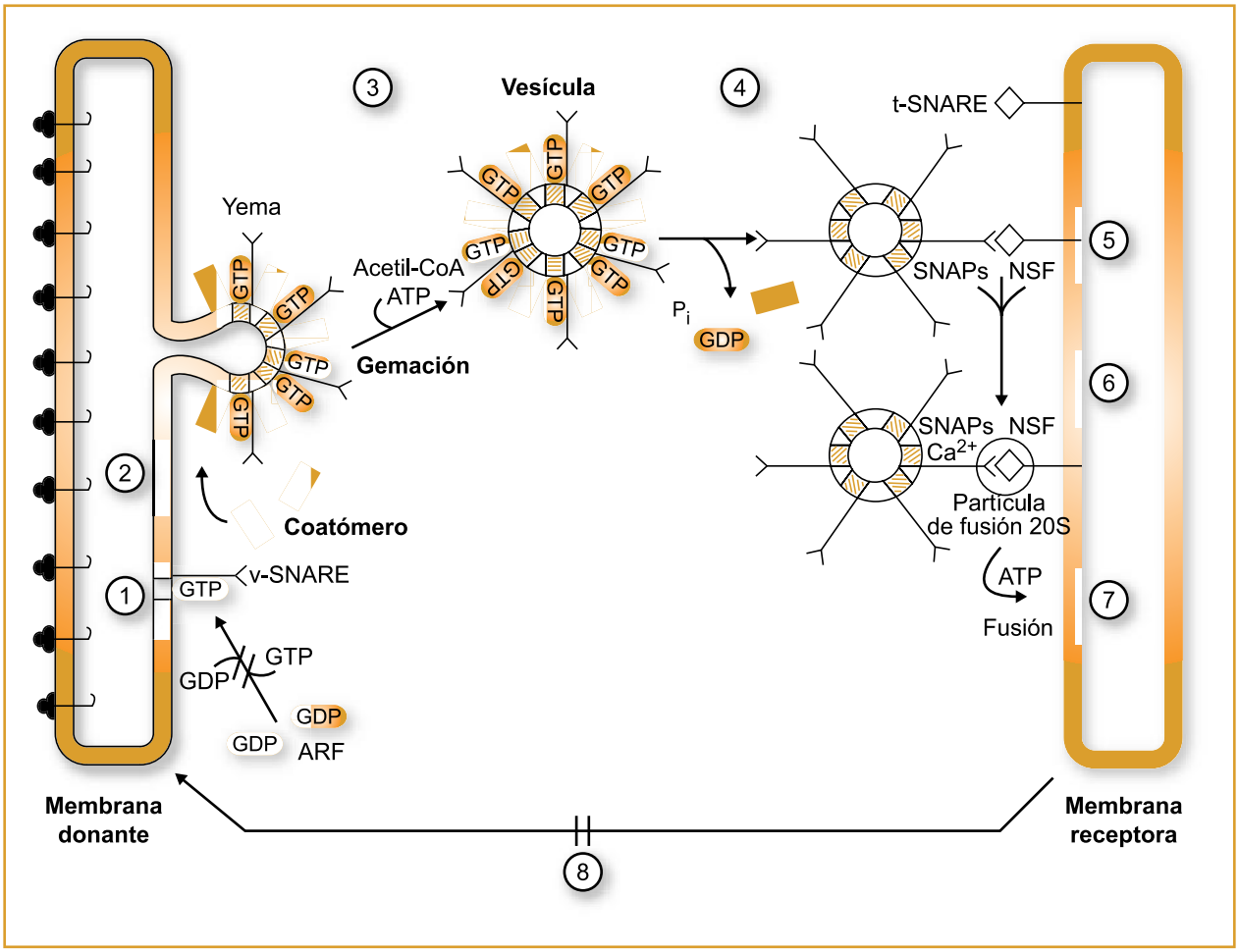


Figura 16. *Transporte vesicular de proteínas. ARF: factor de ribosilación dependiente de ADP; NSF: factor sensible a N-etilmaleimido; SNAP: factor soluble de unión al NSF; v-SNARE: vesícula con receptor de SNAP; t-SNARE: diana con receptor de SNAP (modificado de Rothman JE.* Nature *1994).*

espacial correcta se consigue con la ayuda de unas proteínas denominadas chaperonas y de algunas enzimas, tal como se describirá a continuación. Es importante resaltar en este momento que dicha conformación está especificada en la secuencia de los aminoácidos y que las proteínas y enzimas auxiliares sólo son una ayuda para facilitar la adquisición de la estructura espacial predeterminada.

Se pueden establecer varias etapas en el plegamiento de las proteínas. Parece claro que, en una primera etapa, se van formando puentes de hidrógeno entre los grupos comprometidos en el enlace peptídico conforme las cadenas polipeptídicas emergen de los ribosomas. Ello da origen a regiones localizadas organizadas de acuerdo con lo que se llama **estructura secundaria**. Más importante parece la tendencia posterior de las regiones hidrofóbicas a situarse en el interior de la proteína, huyendo del entorno acuoso, mientras que los grupos polares se situarían en el exterior. Se originaría así en algunos casos una estructura intermedia denominada **glóbulo fundido**. En cualquier caso, el plegamiento de las proteínas es un proceso extraordinariamente complejo y no bien conocido todavía. El avance científico en este campo es de suma importancia. Por una parte, la imposibilidad de que una proteína se pliegue adecuadamente implica la pérdida de su funcionalidad. Pero, además, las proteínas incorrectamente plegadas tienden a formar agregados de carácter tóxico relacionados con diversas enfermedades degenerativas.

4.1. Proteínas auxiliares

4.1.1. Chaperonas

Con el nombre de **chaperonas**, chaperonas moleculares o "carabinas" moleculares, se designa a unas proteínas especiales que facilitan el plegamiento de las demás proteínas. Se trata de unas macromoléculas muy conservadas a lo largo de la evolución. De hecho, se descubrieron en microorganismos sometidos a temperaturas altas, por lo que se llamaron proteínas de choque térmico (Hsp: ***H****eat* ***s****hock* ***p****roteins*). El calor produce el desplegamiento de las proteínas **(desnaturalización)**, de manera que se necesita volver a plegarlas, como en el caso de su formación ribosomal.

Existen varios tipos de chaperonas que se agrupan según su tamaño molecular, destacando entre ellas la familia de chaperonas Hsp70 y las Hsp60. Las primeras se unen a los grupos hidrofóbicos de las proteínas recién sintetizadas durante un cierto tiempo, impidiendo de ese modo que dichos restos hidrofóbicos se unan a restos hidrofóbicos de otras proteínas, lo que originaría su agregación tóxica.

Para ello, estas chaperonas necesitan el aporte energético proporcionado por la hidrólisis del ATP. Las Hsp60, denominadas también chaperoninas, son más complejas. Se agrupan originando una especie de caja o cavidad hidrofílica, en la que se puede encerrar el polipéptido desplegado para que su plegamiento se realice en el ambiente adecuado. En algunas ocasiones, ambos tipos de chaperonas pueden colaborar en el plegamiento de determinadas proteínas.

4.1.2. Proteína disulfuro isomerasa

Los puentes disulfuro son enlaces covalentes que se originan por oxidación de los grupos tiólicos de restos de cisteína. Estos enlaces determinan fuertemente la estructura espacial, pero su formación es inespecífica. Por ello se pueden formar puentes disulfuro incorrectos, que llevarían a conformaciones no funcionales. La proteína disulfuro isomerasa tiene la capacidad de romper estos enlaces cuando son inadecuados y posibilitar, por tanto, la formación de nuevos enlaces correctos que estabilicen la conformación nativa.

4.1.3. Peptidil prolina isomerasa

La mayoría de los enlaces peptídicos entre la prolina y el aminoácido anterior en la secuencia son de tipo *trans*. Sin embargo, algunos de estos enlaces en las proteínas maduras deben ser de tipo *cis*. La peptidil prolina isomerasa puede realizar la transformación de dichos enlaces de *trans* a *cis*, permitiendo alcanzar la conformación final correcta.

4.2. Enfermedades producidas por el plegamiento incorrecto de las proteínas

Existen varias causas para que una determinada proteína se pliegue de forma incorrecta:

a) La existencia de errores genéticos que alteren la secuencia de los aminoácidos de la proteína en cuestión.

b) Las modificaciones químicas de algunos aminoácidos de dicha proteína, debidas fundamentalmente al ataque por las especies reactivas de oxígeno (*ver Capítulo 1.19*).

c) Los errores genéticos que afecten a las chaperonas y enzimas auxiliares, alterando su funcionalidad.

d) La disminución en la concentración de chaperonas y enzimas auxiliares, debida al envejecimiento.

Como puede verse, el envejecimiento celular afecta al plegamiento de las proteínas de forma importante, ya que en este proceso no solamente disminuye la concentración de chaperonas y enzimas auxiliares, sino que por otra parte aumenta considerablemente la concentración de especies reactivas de oxígeno **(Figura 17)** (*ver Capítulo 1.34*). Es importante resaltar que todos estos mecanismos se producen de manera especialmente notable en el sistema nervioso central.

Las proteínas plegadas de manera incorrecta no sólo pierden su funcionalidad biológica sino que, además, pueden resultar tóxicas para las células que las contienen, porque tienden a formar agregados moleculares entre ellas. La asociación entre estas proteínas se produce a través de la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares, lo que origina un tipo de estructura denominada **hoja o lámina** β. El proceso comienza por la constitución de agregados oligoméricos o protofibrillas

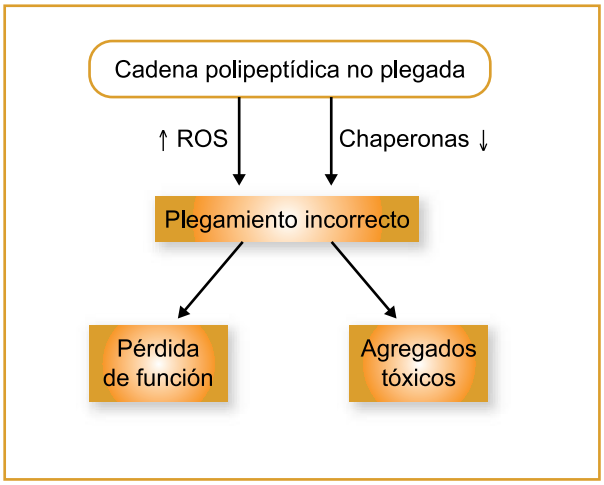


Figura 17. *Plegamiento incorrecto de proteínas como consecuencia del envejecimiento. ROS: especies reactivas de oxígeno.*

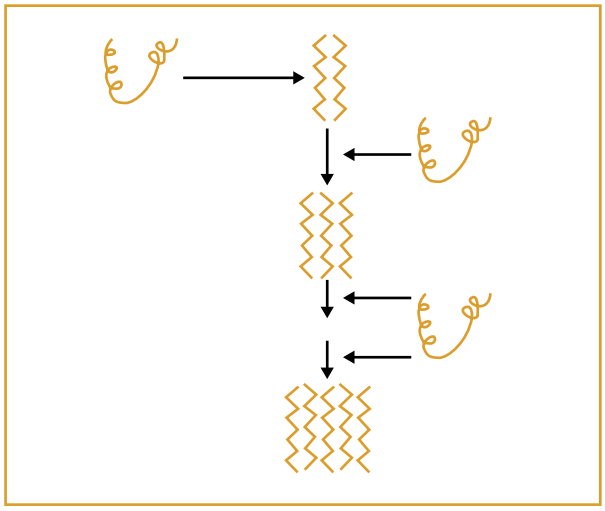


Figura 18. *Agregación de proteínas plegadas de forma incorrecta para formar fibrillas amiloides.*

que de manera gradual originan polímeros fibrilares **(Figura 18)**. Estas fibrillas reciben el nombre de "amiloides" por su parecido a los depósitos de almidón. En la actualidad se conocen más de 20 proteínas que pueden dar origen a ese tipo de depósitos fibrilares y que producen las correspondientes enfermedades, agrupadas bajo el término general de **amiloidosis**. Entre estas enfermedades se encuentran, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, en las que las fibrillas se localizan en el sistema nervioso, así como otras entidades clínicas diversas en las que las fibrillas se distribuyen de forma sistémica, como el mieloma múltiple o las amiloidosis asociadas a la hemodiálisis.

Vale la pena resaltar dos aspectos que son comunes a todas estas alteraciones:

a) A pesar de que las proteínas implicadas son heterogéneas en su estructura, las fibrillas amiloides son indistinguibles morfológicamente entre sí. Ello se debe a que la estructura en hoja β se origina por la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos que forman el enlace peptídico y que, naturalmente, son comunes en todos los casos. En cambio, la formación de enlaces entre las cadenas laterales de los aminoácidos, que lógicamente son distintas, no influyen en la estructura final.

b) Existe una considerable controversia en relación al origen de la toxicidad de estos agregados. Aunque hay evidencia sobre la toxicidad de las fibrillas maduras en algunas de estas enfermedades, existen datos recientes que sugieren que, en algunos casos, entre los que se encuentra la enfermedad de Alzheimer, los oligómeros no fibrilares que preceden a la formación de las fibrillas amiloides pueden ser las especies tóxicas primarias. Ello se debería a que en estos agregados oligoméricos quedan al descubierto determinadas zonas de las proteínas, especialmente las regiones hidrofóbicas, que pueden interaccionar así con diversas estructuras celulares, originando reacciones inflamatorias o la muerte celular programada (apoptosis) (*ver Capítulo 1.32*). Por el contrario, las fibrillas amiloides maduras son más bien inertes desde el punto de vista de su reactividad química.

Por último, es interesante destacar que los depósitos fibrilares pueden ser eliminados. El mecanismo de la resorción de las fibrillas no se conoce aún, pero parece que sería debida a su fagocitosis. De esta forma se pueden explicar los beneficios de la inmunoterapia en la enfermedad de Alzheimer.

5. Degradación de proteínas

La vida media de las proteínas es muy variable: desde algunos minutos (caso, p. ej., de la proteína antioncogénica p53) hasta unos cuantos días (actina y miosina musculares) e incluso años (proteínas

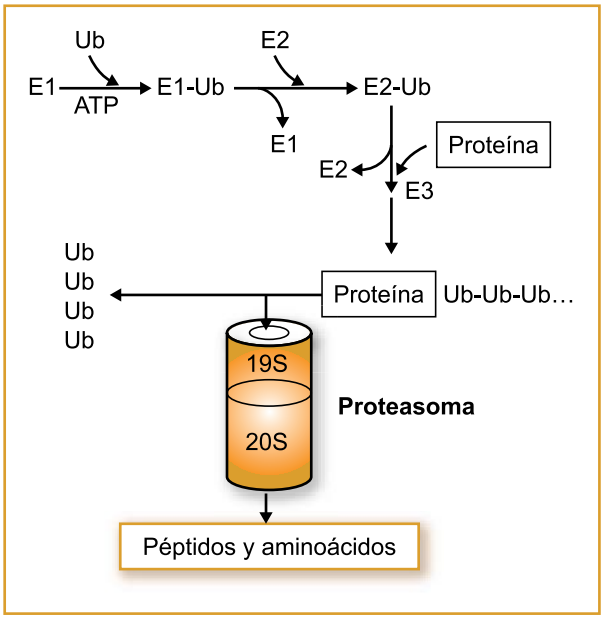


Figura 19. *Ubiquitinación y proteasoma. Ub: ubiquitina.*

del cristalino). Es lógico que las proteínas con funciones reguladoras tengan una semivida corta y muy controlada. Entre estas proteínas se encuentran muchas enzimas y, especialmente, las proteínas que regulan el ciclo celular. Como se detalla en el Capítulo 1.7, la biosíntesis de las proteínas puede controlarse de una manera muy específica por mecanismos que responden a determinadas señales celulares. Pero la duración de la vida de una proteína no depende sólo del control de su síntesis, sino también del control de su degradación.

Durante mucho tiempo, se ha prestado poca atención a este último aspecto. Se pensaba que la degradación de las proteínas no era un proceso muy regulado. De hecho, el principal sistema degradativo bien conocido era la proteólisis por los lisosomas. Estos orgánulos celulares degradan materiales extracelulares. Se pueden destacar, entre estas partículas, los microorganismos, pero también se incluyen aquí proteínas extracelulares, como inmunoglobulinas, insulina, etc. Una vez que ingresan en el interior celular (por pinocitosis o endocitosis mediada por receptores, según los casos), estas partículas se funden con los lisosomas, produciéndose entonces la degradación hidrolítica de dicho material extracelular. Pero, además de este proceso heterofágico, existe también una autofagia. En este caso, la vacuola digestiva se forma entre el lisosoma y una parte del interior celular (orgánulos alterados estructural y funcionalmente). De esta forma, las proteínas de dichos orgánulos son degradadas junto al resto de constituyentes moleculares implicados. Está claro, sin embargo, que la proteólisis autofágica es fundamentalmente inespecífica, puesto que no va dirigida a ninguna proteína en particular.

En la actualidad, se conocen ya algunos procesos proteolíticos específicos que pueden ayudar a comprender de forma global el mecanismo del control de la semivida de las proteínas. El principal de estos procesos está relacionado con un sistema de degradación denominado **proteasoma** al que acceden determinadas proteínas tras su marcaje por **ubiquitinación**. Vale la pena resaltar en este momento que este mecanismo de proteólisis específica no se utiliza solamente para las proteínas funcionales que deben tener regulada su semivida, sino también para las proteínas con plegamiento incorrecto para evitar sus efectos tóxicos (*ver apartado 4*).

En resumen, la destrucción de las proteínas en el organismo humano se realiza por tres vías:

a) Las proteínas exógenas (aportadas por la dieta) son destruidas en el tracto gastrointestinal.

b) Las proteínas endógenas, sintetizadas en el organismo y enviadas al exterior celular (proteínas plasmaticas, hormonas, etc.) son destruidas por los lisosomas una vez captadas por endocitosis o pinocitosis.

c) Las proteínas endógenas que permanecen en el interior celular se degradan fundamentalmente por el proteasoma.

5.1. Proteasoma

El proteasoma es un complejo de gran tamaño (26S) formado por una gran cantidad de proteínas, muchas de ellas con actividad proteásica. Está compuesto por dos tipos de subunidades. Una de ellas (20S) tiene una estructura de túnel o barril y es la que posee la actividad proteolítica, que se pone de manifiesto cuando las proteínas a degradar la atraviesan. Estas proteínas son reconocidas por el otro tipo de subunidad (subunidad reguladora, 19S) que se dispone a uno o a ambos extremos de la subunidad catalítica **(Figura 19)**. La degradación de proteínas por el proteasoma origina la

liberación de aminoácidos y péptidos pequeños. En la mayor parte de los casos, estos peptidos son hidrolizados rápidamente por proteasas y peptidasas celulares. En su conjunto, los aminoácidos obtenidos pueden utilizarse entonces para la síntesis de nuevos péptidos y proteínas. Este proceso necesita un cierto gasto energético, empleado en modificar la estructura espacial de dichas proteínas para que puedan atravesar el canal proteolítico. Ello se consigue porque las subunidades reguladoras tienen también actividad ATPasa. Por otra parte, el reconocimiento de las proteínas por las subunidades reguladoras exige su ubiquitinación previa.

5.2. Ubiquitinación

La **ubiquitina** es un polipéptido de 76 aminoácidos que debe ser unido de forma covalente a las proteínas para que puedan ser reconocidas en el proteasoma. Para ello se necesitan tres tipos de enzimas denominadas E1, E2 y E3 que facilitan la unión de muchos restos de ubiquitina a la proteína que debe ser destruida, con gasto de ATP. Una vez que las proteínas poliubiquitinadas son reconocidas por el proteasoma, los restos de ubiquitina son liberados y pueden volver a utilizarse para el marcaje de nuevas proteínas **(Figura 19)**.

5.3. Significado fisiológico del sistema ubiquitina-proteasoma

Existen numerosos procesos fisiológicos que utilizan este sistema para su regulación. Se pueden destacar los siguientes:

a) Ciclo celular. Para iniciar la síntesis del DNA, las células necesitan el concurso de unas enzimas conocidas por las siglas CdK (***C****ycling* ***d****ependent* ***K****inase*). Estas enzimas se encuentran normalmente inactivadas por unas proteínas específicas (CKI). Para que el ciclo celular pueda ponerse en marcha deben destruirse estas proteínas CKI, lo que se consigue tras su ubiquitinación y degradación proteasómica.

b) Ayuno. Tanto en el ayuno como en los estados de desnutrición grave, traumatismos, caquexia cancerosa, etc., se produce una intensa degradación de proteínas musculares. Esto permite el funcionamiento de la gluconeogénesis en el hígado a partir de los aminoácidos liberados. De esta forma, la glucosa sintetizada puede ser utilizada por el sistema nervioso central. La degradación de las proteínas musculares se lleva a cabo fundamentalmente en los proteasomas.

c) Presentación de antígenos. La destrucción proteasómica de proteínas extrañas permite obtener péptidos de 8 o 10 aminoácidos, que serán anclados posteriormente a la membrana para su reconocimiento por el sistema inmunitario.

d) Respuesta inflamatoria. Uno de los principales mecanismos implicados en la respuesta inflamatoria es la activación del factor de transcripción NFκB (***N****uclear* ***F****actor* κ-***B*** *lymphocyte*), que origina la síntesis específica de multitud de proteínas inflamatorias: citokinas, factores de crecimiento hematopoyético, moléculas de adhesión, etc. En condiciones normales, el NFκB está inhibido por una proteína específica (IκB). Tras ser activada la célula por los mediadores de la inflamación, la proteína IκB es ubiquitinada y destruida por el proteasoma, permitiendo así la síntesis de las proteínas inflamatorias ya descritas.

e) Destrucción de proteínas plegadas incorrectamente. De esta forma se evita que se produzcan los agregados tóxicos ya considerados en el apartado 4.

5.4. Regulación del sistema ubiquitina-proteasoma

Como se ha descrito anteriormente, las proteínas que deben ser degradadas en el proteasoma son "etiquetadas" por poliubiquitinación, lo que las hace reconocibles por la subunidad reguladora del sistema proteolítico. De las tres enzimas utilizadas en la ubiquitinación, la enzima E3 es, sin duda, la principal responsable del reconocimiento de la proteína que debe ser etiquetada. Existen numerosas especies moleculares de estas enzimas E3, lo que explica en principio la posibilidad de identificación de muchas proteínas diferentes para que se degraden. Sin embargo, todavía se sabe muy poco acerca de los mecanismos implicados en este reconocimiento selectivo. En algunos casos, la enzima E3 puede reconocer trozos específicos de la cadena peptídica de la proteína que va a ser degradada. Podría decirse que estas proteínas llevan impresa en su estructura la marca para su destrucción. És-

te podría ser el sistema para el reconocimiento de las proteínas mal plegadas, que exhibirían una serie de aminoácidos hidrofóbicos en su superficie. En otros casos se necesita que la proteína a degradar sea modificada, generalmente por fosforilación. También son posibles los mecanismos que implican modificaciones en las propias enzimas E3 y la utilización de proteínas auxiliares para el reconocimiento.

El reconocimiento selectivo de las proteínas que deben ser degradadas puede considerarse como un proceso específico de regulación. Existen, además, algunas situaciones en las que la regulación del sistema ubiquitina-proteasoma se realiza de una manera general:

a) Desnutrición severa, ayuno o estrés catabólico. En estas circunstancias se produce una intensa degradación proteica muscular. Esto es así porque aumenta la cantidad de las proteínas que forman el sistema degradativo.

b) Presentación de antígenos. En este caso no hay una respuesta "de cantidad" como en el caso anterior, sino que hay un cambio "cualitativo". Es decir, que se sintetizan componentes del proteasoma que tienen una especificidad distinta para la hidrólisis proteica, formándose lo que podrían llamarse **inmunoproteasomas**. De esta forma se favorece que los péptidos originados tengan mayor afinidad por los complejos de histocompatibilidad de las células presentadoras y por los receptores de las células T citotóxicas.

5.5. Localización del sistema ubiquitina-proteasoma

Aunque la localización principal del sistema ubiquitina-proteasoma es el citosol, también se encuentra en otros territorios celulares, siendo especialmente interesante su localización en el retículo endoplásmico. Su función biológica parece estar relacionada, sobre todo en este caso, con la destrucción de proteínas plegadas incorrectamente. Hay que recordar que muchas proteínas sintetizadas en el retículo endoplásmico suelen ser proteínas destinadas a las membranas o a ser secretadas al exterior celular. La degradación de estas proteínas, por estar plegadas incorrectamente, formaría parte de lo que se podría denominar **control de calidad**, proceso que se considerará más adelante. Entre las proteínas sometidas a este control de calidad se encuentra la hidroxi-metil-glutaril-CoA-reductasa (enzima clave en la regulación de la biosíntesis del colesterol), la CFTR (***C****ystic* ***F****ibrosis* ***T****ransmembrane conductance* ***R****egulator*: proteína transmembrana que regula la conductancia y cuya alteración es la causa de la fibrosis quística) y las proteínas que forman el complejo principal de histocompatibilidad de clase I.

5.6. Alteraciones patológicas relacionadas con el sistema ubiquitina-proteasoma

Existen ya suficientes datos que apuntan a la implicación del mal funcionamiento del sistema ubiquitina-proteasoma en el origen o desarrollo de diversas enfermedades. Entre ellas se pueden destacar las siguientes:

a) Cáncer. En un apartado anterior se ha hecho ya referencia al papel del sistema ubiquitina-proteasoma en el control del ciclo celular. En este contexto pueden incluirse no solamente las enzimas CdK ya mencionadas, sino también muchos factores de crecimiento, receptores y factores de transcripción (proteínas oncogénicas) y proteínas supresoras (antioncogénicas) (*ver Capítulo 1.32*). Muchas de estas proteínas deben degradarse por el sistema proteasómico. Si el mal funcionamiento de este sistema afectara a las proteínas oncogénicas, se produciría entonces el alargamiento de su vida media, facilitando la proliferación neoplásica. Por otra parte, también puede estimularse la proliferación celular excesiva si el sistema funciona de manera anormalmente elevada, ya que entonces se podrían destruir muy rápidamente proteínas supresoras como la p53 o la p27.

b) Fibrosis quística. Esta enfermedad se produce como consecuencia de la alteración de la proteína CFTR, ya citada, que afecta a la secreción de iones cloruro. A pesar de que existen numerosísimas mutaciones, que alteran de forma muy distinta a esta proteína, la mayor parte de las veces se produce una deleción en la fenilalanina en posición 508. Esta alteración hace que la proteina se pliegue incorrectamente en el retículo endoplásmico, por lo que es degradada por el sistema ubiquitina-proteasoma y no puede alcanzar la membrana celular.

c) Enfermedades neurodegenerativas. Como se ha considerado anteriormente (*ver apartado 4*), las proteínas plegadas incorrectamente tienden a formar agregados tóxicos, siendo el sistema nervioso central el tejido más vulnerable. Existen datos recientes que indican la presencia en estos depósitos proteicos cerebrales de ubiquitina y proteínas procedentes de los complejos proteasómicos. Ello sugiere que la toxicidad de las protofibrillas podría haber afectado al sistema ubiquitina-proteasoma, sistema que, de haber funcionado correctamente, habría impedido la propia formación de las protofibrillas. Otra posibilidad sería un funcionamiento escaso del sistema proteolítico debido a causas genéticas o al envejecimiento. En cualquier caso, la implicación del sistema ubiquitina-proteasoma en la etiopatogenia de las enfermedades neurodegenerativas está todavía por esclarecer.

5.7. Otros sistemas proteolíticos

Además del sistema ubiquitina-proteasoma parecen existir otros mecanismos para degradar proteínas potencialmente tóxicas. Entre estas proteasas merece destacarse la conocida como insulinasa, insulisina o "enzima degradadora de la insulina" (IDE: ***I**nsulin-**D**egradating **E**nzyme*). Se trata de una tiolmetalo-endopeptidasa, que actúa a pH neutro y que se encuentra en muchos tejidos y órganos, incluyendo el hígado y el cerebro. Esta enzima no degrada solamente la insulina sino también otros polipéptidos hormonales. Pero, además, parece responsable de la degradación de péptidos capaces de formar fibrillas amiloides, como el péptido β-amiloide inplicado en la formación de las placas amiloides en la enfermedad de Alzheimer o el péptido responsable de la formación de la amilina en las células β pancreáticas características de la diabetes tipo 2.

6. Control de calidad de la conformación espacial de las proteínas

Como se ha destacado en los apartados 4 y 5, la conformación espacial de las proteínas exige un plegado correcto de las cadenas polipeptídicas. En caso contrario, no sólo se pierde la funcionalidad biológica, sino que se originan agregados tóxicos. Es lógico, por tanto, que las células dispongan de mecanismos que aseguren dicha conformación espacial. Este control de calidad se basa en la existencia de chaperonas y enzimas auxiliares que faciliten el plegamiento correcto, así como en el funcionamiento de sistemas proteolíticos que degraden las proteínas incorrectamente plegadas (sistema ubiquitina-proteasoma) **(Figura 20)**. Ambos tipos de sistemas utilizan ATP, por lo que en su conjunto suponen un considerable gasto energético para la célula.

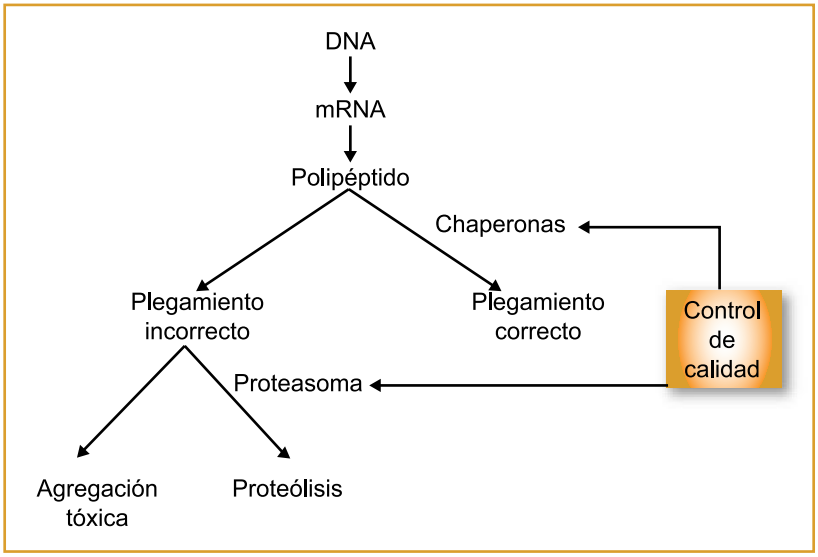


Figura 20. *Control de calidad de la conformación espacial de las proteínas.*

Es interesante resaltar que el término **control de calidad** se utilizó por primera vez, en el contexto al que se hace referencia, para designar los sistemas operativos en el retículo endoplásmico. En este territorio celular se sintetizan proteínas que deben ser enviadas a la membrana o a otras células. Para evitar la exportación de proteínas plegadas incorrectamente o proteínas oligoméricas mal ensambladas, el retículo endoplásmico dispone de proteínas especializadas. Estas proteínas tienen

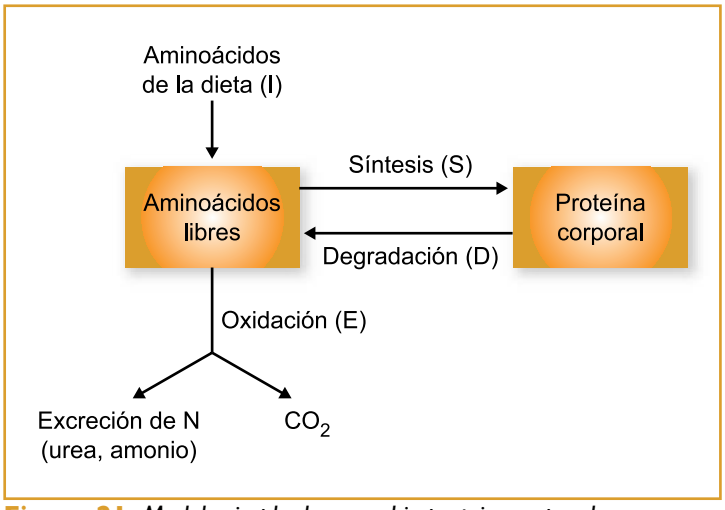


Figura 21. *Modelo simple de recambio proteico corporal.*

capacidad para ayudar al plegamiento correcto de las proteínas o a su ensamblaje adecuado si son oligoméricas. Pero, además, son capaces de retener en el retículo endoplásmico a dichas proteínas hasta que se consiga su conformación espacial correcta. Cuando esta conformación no se consigue y el tiempo de retención se prolonga excesivamente, las proteínas son retrotranslocadas al espacio citosólico y se degradan por los proteasomas.

Aunque parece que el sistema proteolítico ligado al retículo endoplásmico se utiliza fundamentalmente para la degradación de proteínas plegadas incorrectamente, existen datos suficientes para pensar en otro tipo de funciones. Entre estas funciones estaría la degradación de enzimas reguladoras, como es el caso de la hidroxi-metil-glutaril-CoA reductasa. Ésta es una enzima clave en la biosíntesis del colesterol, se encuentra en la membrana del retículo endoplásmico y es regulada en parte por la velocidad de su degradación que se realiza por dicho sistema proteolítico.

7. Recambio proteico

7.1. Dinámica de las proteínas

La síntesis y degradación continua de las proteínas corporales ocurre en todos los seres vivos. A este proceso se le conoce con el nombre de recambio o ***turnover* proteico**. En los humanos se recambia diariamente el 1 y el 2% de las proteínas corporales, principalmente la proteína muscular. En todos los tejidos donde existe un crecimiento rápido o una reordenación o remodelado de las estructuras hay una elevada tasa de degradación proteica; esto es lo que ocurre, por ejemplo, en el útero durante el embarazo o en el músculo esquelético durante el ayuno. De los aminoácidos liberados, el 75% son reutilizados y el resto contribuye a la formación de urea. Como el exceso de aminoácidos provenientes de la dieta o de la degradación de otras proteínas endógenas no se almacena, los aminoácidos que no se incorporan a las nuevas proteínas son degradados rápidamente.

Un adulto humano degrada diariamente alrededor de 300 g de proteína. Sin embargo, la ingesta proteica es de tan sólo unos 100 g, lo que significa que aproximadamente 400 g de proteína son hidrolizados hasta los aminoácidos correspondientes y 300 g son reutilizados para la biosíntesis de nuevas proteínas; el resto de los aminoácidos son oxidados o, en parte, son convertidos hasta otros productos de naturaleza no proteica tales como nucleótidos púricos y pirimidínicos, neurotransmisores tales como serotonina y tiramina y hormonas de naturaleza no peptídica (catecolaminas y hormonas tiroideas). No obstante, como la cantidad de aminoácidos consumida en estas últimas vías metabólicas es relativamente pequeña, a menudo se ignoran en la evaluación del recambio proteico y del balance nitrogenado corporal.

La **Figura 21** representa un modelo simple del recambio proteico corporal enfatizando el intercambio de aminoácidos con las proteínas corporales a través de los procesos de síntesis y de degradación proteica, y también la entrada y salida de aminoácidos por la dieta y la oxidación. Los aminoácidos se incorporan al *pool* corporal a partir de la digestión de las proteínas de la dieta (I) y de la degradación de la proteína corporal (D). La eliminación de los aminoácidos del *pool* ocurre por la síntesis de proteína (S) o a través de la excreción (E), vía oxidación con la excreción concomitante de CO_2 y nitrógeno en forma principalmente de urea y amonio. En este esquema simplificado, todas las proteínas circulantes y tisulares

se consideran de forma conjunta y, asimismo, el *pool* de aminoácidos libres se considera único, más que como compartimentos individualizados por células, tejidos, sangre, etc. Este modelo simple ha sido muy útil en el campo de la nutrición para desarrollar métodos de medida del intercambio de aminoácidos entre el *pool* de proteínas y el de aminoácidos a nivel corporal.

Si la cantidad de aminoácidos libres en el *pool* es constante, la suma de los procesos que retiran aminoácidos (síntesis proteica y oxidación) debe ser igual a la suma de los procesos por los que los aminoácidos entran en el *pool* libre (degradación proteica e ingesta dietética de aminoácidos).

S + E = D + I = Q

Q, la suma de la proporciones de entrada o salida de los aminoácidos del *pool*, se denomina proporción o tasa de flujo, o también proporción de aparición (R_a) o de desaparición (R_d). En un adulto humano en situación de equilibrio nitrogenado, la ingesta de nitrógeno es igual a la excreción, y la síntesis proteica igual a la degradación. En un individuo con balance nitrogenado positivo hay síntesis neta de proteínas (S > D), mientras que hay pérdida o degradación neta de proteínas cuando existe un balance nitrogenado negativo (S < D).

La pérdida de proteína corporal puede ocurrir por un descenso en la síntesis sin cambio en la degradación, un incremento en la degradación sin cambio en la síntesis proteica o por una aumento o un descenso tanto de la síntesis como de la degradación, en los que la degradación excede a la síntesis. Por ejemplo, en los niños con desnutrición proteico-energética e infección se pierden proteínas corporales, pero tanto la síntesis como la degradación están disminuidas. Asimismo, se puede alcanzar un balance nitrogenado positivo por aumentos en la síntesis de proteínas, disminución de la degradación o por una síntesis que excede a la degradación. Por ejemplo, en los niños que se recuperan de un proceso de desnutrición, tanto la síntesis como la degradación proteica están aumentadas, pero el aumento en la síntesis es mayor que la degradación.

La estimación del balance nitrogenado corporal, a través de la medida del nitrógeno ingerido y del excretado indica el cambio de proteína neta corporal, mientras que las medidas de la síntesis proteica y de la degradación dan información del mecanismo por el que ocurren los cambios.

7.2. Métodos de medida del recambio proteico

Los métodos utilizados para la medida de la síntesis y degradación proteica y de la oxidación de aminoácidos se basan en técnicas de incorporación de trazadores isotópicos. Los aminoácidos marcados con isótopos radiactivos (^{14}C, ^{3}H) se han utilizado en experimentación animal, mientras que en los humanos se usan únicamente isótopos estables (^{15}N, ^{13}C, ^{2}H). La medida en los tejidos o fluidos biológicos del isótopo se lleva a cabo mediante espectrofotometría de masas.

Para medir el recambio proteico corporal se ingiere o infunde una solución que contiene el aminoácido marcado y posteriormente se mide la desaparición de la marca del *pool* de aminoácidos en un tejido o fluido concreto. También se puede medir la aparición del aminoácido marcado en una proteína concreta. Así, la proporción de síntesis y oxidación de un aminoácido marcado con ^{13}C puede medirse por la aparición de la marca en sangre y la cantidad de $^{13}CO_2$ espirado. Si el aminoácido tiene el N marcado se puede hacer un seguimiento del amonio y de la urea marcados.

La determinación del recambio proteico puede llevarse a cabo también mediante medida de las diferencias arterio-venosas de un aminoácido marcado que es extraído por un tejido. Asimismo, la determinación de la tasa de síntesis proteica en órganos individuales o tejidos se basa en la cantidad de aminoácido marcado que aparece en la proteína de un tejido específico en un tiempo concreto. El recambio específico de una determinada proteína también puede medirse utilizando técnicas similares.

Por otra parte, la degradación proteica también puede medirse, aunque usualmente es más difícil, porque la desaparición de un aminoácido marcado de un tejido o de un fluido biológico puede llevar aparejada la incorporación de ese mismo aminoácido a otro tejido. En algunos tejidos como el músculo, el hecho de que en la degradación aparezcan algunos derivados de aminoácidos como la 3-metilhistidina, que se forma postraduccionalmente y no se metaboliza, siendo excretado cuantitativamente

Tabla 5. RECAMBIO PROTEICO TISULAR EN EL ADULTO HUMANO

Tejido/órgano	Contenido proteico corporal total (g)	Peso corporal (%)	Síntesis proteica (g/día)	Síntesis proteica (% peso corporal)	Recambio (%/día)
Estómago	26	0,25	11	3,6	43
Intestino delgado	105	1	42	14	40
Hígado	263	2,5	53	18	20
Colon	63	0,6	6	2	9
Músculo cardiaco	53	0,5	3	1	5,2
Músculo esquelético	4.200	40	84	18	2

Fuente: Ingenbleek y Young. Clin Chem Lab Med *2002; 40: 1281-91 (modificado).*

por orina, permite utilizarlo como biomarcador de la degradación proteica muscular.

7.3. Recambio proteico y adaptación

Las proporciones de síntesis y degradación proteica varían dependiendo de las condiciones ambientales intracelulares y extracelulares, que incluyen la biodisponibilidad de nutrientes, así como la interacción con hormonas, citokinas, factores de crecimiento y otras biomoléculas. El recambio proteico es un sistema muy ineficiente bajo el punto de vista energético. Sin embargo, la continua síntesis y degradación de las proteínas permite a los organismos adaptarse a cambios en el ambiente interno, remodelar sus tejidos durante el crecimiento y la reparación de órganos dañados, y eliminar proteínas plegadas inadecuadamente, dañadas o mutadas. Alrededor del 30% de las proteínas que se sintetizan son defectuosas, por lo que el recambio proteico es necesario para mantener una funcionalidad adecuada.

Como se ha comentado anteriormente, se necesita mucha energía para la biosíntesis proteica (*ver apartado 1.4 de este mismo Capítulo*). Las estimaciones del gasto energético debido al recambio proteico son del 15% del gasto energético basal. Sin embargo, dicho proceso confiere al organismo ventajas sustanciales. Así, a las proteínas reguladoras que tienen un recambio muy rápido, desde algunos minutos, por ejemplo, la ornitina descarboxilasa implicada en la síntesis de poliaminas, hasta varias horas, por ejemplo, la hidroximetil-glutaril-CoA reductasa, enzima reguladora clave en la biosíntesis del colesterol, les permite una adaptación rápida en repuesta a las condiciones celulares en un momento determinado.

En los tejidos, las elevadas tasas de recambio proteico les permiten adaptarse a los cambios ambientales. Así, el esófago, el estómago y el intestino delgado tienen un recambio proteico elevado como consecuencia de su actividad secretora y del rápido desplazamiento y muerte de las células de la mucosa del tracto gastrointestinal. El hígado tiene también una tasa de recambio relativamente elevada que facilita su adaptación a cambios tales como las alteraciones en la ingesta de nutrientes. Por el contrario, la síntesis proteica en el tejido muscular cardiaco y esquelético es relativamente baja, en comparación con los tejidos anteriormente mencionados **(Tabla 5)**.

El recambio proteico más elevado ocurre en la vida fetal y desciende progresivamente desde el recién nacido hasta el adulto. Esto es debido no sólo a la mayor síntesis derivada del crecimiento, sino también a la remodelación tisular continuada, mucho mayor en las etapas primeras de la vida. Así, en un niño prematuro, la síntesis proteica es dos veces mayor que en un niño en edad preescolar y de tres a cuatro veces mayor que en un adulto.

Por otra parte, en respuesta a diferentes situaciones fisiológicas como el embarazo, la lactancia,

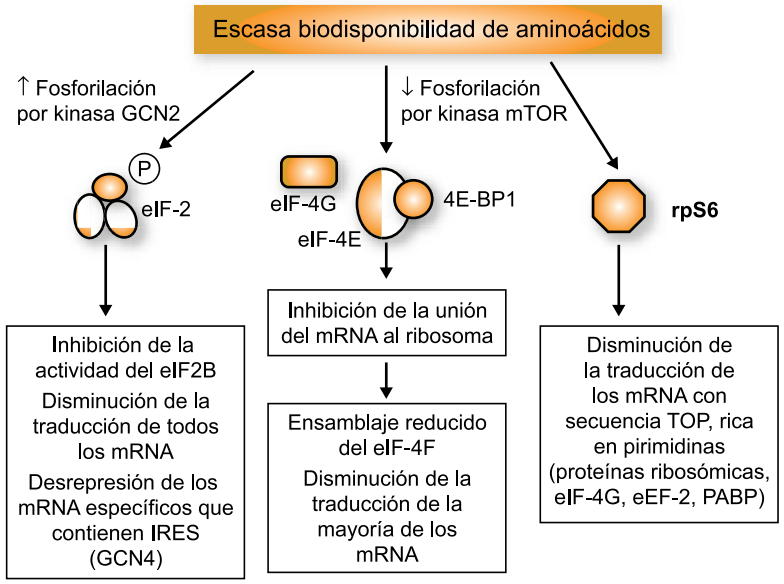


Figura 22. *Efectos de la biodisponibilidad de aminoácidos sobre la síntesis proteica.*

la adolescencia, la vejez o el ejercicio, y patológicas como el trauma o la infección, las proporciones de síntesis y degradación tisular varían, lo que implica que los requerimientos nutricionales de proteínas también lo hacen. Las proporciones de recambio proteico mayores ocurren en los sujetos con trauma grave; en éstos se observa una elevada degradación muscular asociada a una síntesis exacerbada de proteínas de fase aguda, sintetizadas por el hígado.

7.4. Regulación del recambio proteico

Además de las condiciones fisiopatológicas, la biodisponibilidad de aminoácidos, especialmente de los esenciales, es un factor clave en la regulación de la síntesis proteica. Los mecanismos moleculares por los cuales los aminoácidos regulan la expresión genética se tratan con detalle en el Capítulo 1.31.

Los aminoácidos actúan a través de varias vías de señalización que modulan la expresión génica a nivel de la fase de iniciación de la traducción. La proteína kinasa del factor eIF-2, la kinasa-2 de control general no-desrepresora (GCN2) y la proteína kinasa díana de la rapamicina de mamíferos (mTOR) son las principales enzimas reguladoras de la traducción descubiertas hasta ahora. La fosforilación de la subunidad α del factor eIF-2 por la kinasa de eIF-2 supone un mecanismo fundamental para inhibir la síntesis proteica. Asimismo, la GCN2, que es una kinasa que también fosforila dicha subunidad, se activa en respuesta a la ausencia de aminoácidos en la dieta, limitación de purinas disponibles por la célula o daño al DNA.

La disponibilidad de aminoácidos regula la actividad de otros factores como el eIF-2B y el ensamblaje del eIF-4F, así como la fosforilación de la proteína S6 de los ribosomas. Todo ello determina la activación o inhibición de la síntesis proteica. Sin embargo, no todas las proteínas se afectan por igual; en particular, las proteínas codificadas por mRNA que contienen motivos constituidos por oligopirimidinas en el extremo 5' (TOP) son las reguladas mayoritariamente. Estos mRNA codifican proteínas implicadas en la traducción, como los factores eIF-1 y eIF-2. Así, la privación de aminoácidos no sólo reprime directamente la traducción global de los mRNA, sino que da lugar a una menor capacidad para la síntesis proteica. La **Figura 22** esquematiza los efectos de la

Tabla 6. ABREVIATURAS Y NOMENCLATURA DE DIFERENTES BIOMOLÉCULAS Y COMPLEJOS PROTEICOS MENCIONADOS EN ESTE CAPÍTULO

Siglas	Significado
ARF	Factor de ribosilación de ADP
CFRT	Transportador regulador de la conductancia alterado en la fibrosis quística
eEF	Factor de elongación de la cadena polipeptídica
eIF	Factor de iniciación de la traducción
Dol-P-P	Dolicol pirofosfato
GAPs	Proteínas asociadas a GTP activadoras de las Ran
GCN2	Kinasa 2 de control general no desrepresora
GEFs	Factores de intercambio de nucleótidos de la guanina
Met-RNA^{i}	Metionil-tRNA de unión al codón de iniciación
MPP	Peptidasa procesadora de proteínas de la matriz mitocondrial
mRNA	RNA mensajero
NES	Señal de exportación nuclear
NFκB	Factor de transcripción nuclear κB
NLS	Señal de localización nuclear
NPC	Complejo proteico de los poros nucleares
NSF	Factor sensible a N-etil-maleimida
PKR	Proteína kinasa R
PTSs	Secuencias diana de la matriz peroxisomal
RF	Factor de liberación de la cadena polipeptídica
rRNA	RNA ribosómico
SNAP	Proteína de unión a NSF
SNARE	Receptor de SNAP
SRP	Partícula de reconocimiento de señales
SRP-R	Receptor de SRP
TIM	Complejo de translocación de la membrana interna mitocondrial
TOM	Complejo de translocación de la membrana externa mitocondrial
TOP	Motivo de oligopirimidina en el extremo 5' de los mRNA
tRNA	RNA de transferencia
t-SNARE	Diana de SNARE
v-SNARE	SNARE vesicular

disponibilidad de aminoácidos en la regulación de la síntesis de proteínas.

Debido a la complejidad en la nomenclatura de muchas de las biomoléculas y complejos proteicos que participan en la traducción y en el tráfico intracelular de proteínas, así como en el plegamiento y en la degradación proteica, en la **Tabla 6** se muestra un listado de todas aquellas moléculas o complejos moleculares importantes nombrados con siglas cuyo significado es menos intuitivo.

8. Resumen

- Los tejidos pueden responder a las demandas ambientales alterando las proporciones de síntesis y degradación proteica, así como cambiando el espectro de proteínas individuales sintetizadas, adaptándose a circunstancias con demandas especiales, como el crecimiento y el desarrollo, el embarazo, la lactancia y la enfermedad.

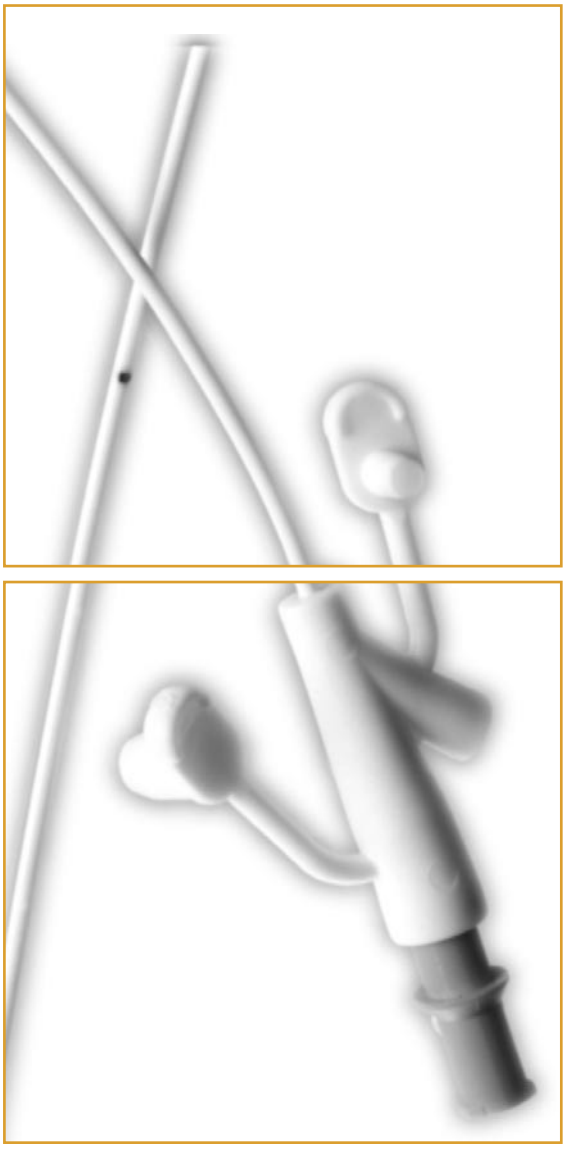
- La biosíntesis de proteínas se realiza de acuerdo con la información genética contenida en el DNA a través de la formación de RNA mensajeros. El acoplamiento de estos RNA con los ribosomas mediante el concurso de numerosas moléculas auxiliares y un considerable gasto de energía permite la síntesis de proteínas con la secuencia codificada en los genes correspondientes.

- Muchas de las proteínas sintetizadas por los ribosomas deben alcanzar diversas localizaciones celulares, lo que exige mecanismos adicionales específicos y que son de gran trascendencia fisiológica. Especialmente interesantes son los aspectos moleculares del tráfico celular de las proteínas elaboradas en el retículo endoplásmico con destino a la membrana o a la secreción exterior.

- La estructura espacial de las proteínas está condicionada únicamente por su secuencia, que está codificada en el material genético. No obstante, para adquirir correctamente esta conformación espacial, muchas proteínas necesitan el concurso de proteínas auxiliares, las más importantes de las cuales son las chaperonas o chaperoninas. Cuando las proteínas, a pesar de la colaboración de estas proteínas auxiliares, no alcanzan el plegamiento correcto, pierden sus características funcionales fisiológicas. Además, en muchos casos pueden agregarse entre sí formando compuestos con una importante toxicidad celular.

- La semivida biológica de las proteínas depende de sus funciones y puede variar desde algunos minutos a varios años. Por tanto, además de la regulación de su biosíntesis existe un control del ritmo de su degradación. El principal sistema empleado para regular la destrucción específica de proteínas es su marcaje con una proteína llamada ubiquitina y su destrucción hidrolítica posterior en un complejo proteico denominado proteasoma. Este sistema se utiliza también para destruir proteínas incorrectamente plegadas, previniendo así sus acciones tóxicas.

- El recambio proteico es especialmente importante en los tejidos de rápido crecimiento o remodelación. Por otra parte, la velocidad y el sentido de este recambio pueden verse alterados por circunstancias ambientales (desnutrición proteica, ayuno, traumatismos, etc.). De ahí la importancia de poder medir este recambio y conocer su regulación, especialmente por las condiciones nutricionales.



9. Bibliografía

Mathews CK, Van Holde KE, Ahern KG. Bioquímica, 3ª ed. Addison Wesley. Madrid, 2002.
Libro de Bioquímica general con excelentes ilustraciones e implicaciones clínicas de los procesos bioquímicos que incluye bibliografía seleccionada para cada capítulo.

McKee T, McKee JR. Bioquímica. La base molecular de la vida, 3ª ed. McGraw-Hill Interamericana, 2003.
Libro de Bioquímica fácil de leer y de aspecto actual con numerosas ilustraciones, muchas de ellas tridimensionales y a todo color. Cada capítulo incluye un resumen, lecturas recomendadas, palabras clave y preguntas de revisión.

Medina JM, Sánchez de Medina F, Vargas AM. Bioquímica, 2ª ed. Síntesis. Madrid, 2003.
Manual básico de Bioquímica que incluye varios capítulos dedicados a la traducción, el destino celular de las proteínas y su degradación.

Murray R, Granner D, Mayes P, Rodwell V. Harper´s Illustrated Biochemistry, 26th ed. Lange Medical Books/McGraw-Hill. New York, 2003.
Libro muy completo y muy actualizado, que relaciona la bioquímica humana con las alteraciones patológicas y la medicina molecular. Los capítulos correspondientes a la síntesis y destino celular de las proteínas son resumidos a la vez que actualizados.

Stipanuk MH. Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition. WB Saunders Company. Philadelphia, New York, 2000.
Tratado multiautor que estudia con detalle la estructura y propiedades de los nutrientes, así como su digestión, absorción y metabolismo, y algunos aspectos concretos de las relaciones entre dieta y enfermedad. El capítulo dedicado a la dinámica de las proteínas tiene un enfoque nutricional excelente.

Stryer L, Berg JM, Tymoczko JL. Bioquímica, 5ª ed. Reverté. Barcelona, 2003.
Otro texto clásico de Bioquímica especialmente destacable por la claridad expositiva y la amenidad de su lectura.

10. Enlaces web

- www.emc.maricopa.edu/faculty/farabee/ BIOBK/BioBookPROTSYn.html
- www.indstate.edu/thcme/mwking/protein-synthesis.html
- www.eurekascience.com/ICanDoThat/protein_syn.htm
- www.biochem.emory.edu/protdeg/home.html
- www.degussa-health-nutrition.com/degussa/ html/e/health/eng/kh/p5.htm
- www.mc.uky.edu/biochemistry/courses/bch812/2003/ lectures/23_Amino_acid_degradation_S.pdf
- www.arclab.org/medlineupdates/abstract_12031893.html
- www.chem.uwec.edu/Chem454_S03/Pages/ Overheads/C454_lect10_view.pdf

1.7. Regulación de la expresión génica en organismos eucariotas

Luis Fontana Gallego ■ María José Sáez Lara

Capítulo 1.7.

Regulación de la expresión génica en organismos eucariotas

1. Introducción

2. Organización génica en organismos eucariotas

3. Elementos que forman un promotor

4. Tipos de factores de transcripción

4.1. TF basales y proximales

4.2. TF distales

5. Estructura de los TF

5.1. Dominio de unión al DNA

5.1.1. Motivo hélice-giro-hélice (HTH)

5.1.2. Motivo homeodominio

5.1.3. Motivo cremallera de leucina (bZIP)

5.1.4. Motivo hélice-lazo-hélice (HLH)

5.1.5. Motivo hélice-lazo-hélice-cremallera de leucina (bHLH-ZIP)

5.1.6. Motivo dedo de zinc

5.2. Dominio transactivador

6. Cofactores

7. Mecanismos de acción de los TF activadores

7.1. Remodelado de la cromatina por modificación covalente

7.2. Remodelado de la cromatina por gasto de ATP

8. Mecanismos de acción de los TF represores

9. Regulación de la transcripción de genes de clase II con otras modalidades de promotor

10. Regulación de la transcripción de los genes de clases I y III

11. Otros puntos de regulación de la expresión génica

11.1. Control postranscripcional de la expresión génica

11.1.1. Eliminación diferencial de intrones

11.1.2. Elección del sitio de poliadenilación

11.1.3. Edición del mRNA

11.2. Control pretraduccional de la expresión génica: estabilidad del mRNA

11.3. Control traduccional de la expresión génica: control por bloqueo

11.4. Control postraduccional

11.5. Control de la degradación de proteínas

12. Resumen

13. Bibliografía

14. Enlaces web

Objetivos

- Conocer que en organismos eucariotas todos los procesos que forman la ruta de expresión génica están sujetos a regulación, y que de todos ellos el principal punto de control es la transcripción.
- Comprender que en eucariotas la transcripción se controla mediante la intervención de secuencias de DNA y proteínas, ambas de tipo regulador.
- Conocer los distintos tipos de secuencias reguladoras del DNA.
- Entender por qué el papel de los factores de transcripción es crucial para la regulación del proceso de transcripción.
- Saber qué tipos de factores de transcripción existen, cómo actúan y cuál es su estructura general.
- Distinguir que existen genes que se expresan siempre y genes que se expresan sólo en momentos determinados, y comprender que ello depende del tipo de secuencias reguladoras de DNA que poseen y, en consecuencia, del tipo de factores de transcripción que pueden unir.
- Saber que los factores de transcripción eucariotas suelen ser activadores, pero que también existen otros represores.
- Conocer otros niveles de regulación de la expresión génica distintos de la transcripción.

1. Introducción

En los organismos eucariotas, la concentración de una proteína celular viene dada por el equilibrio de una serie procesos que aparecen resumidos en la **Figura 1**:

- La transcripción, es decir, la síntesis de una molécula de RNA mensajero (mRNA) inmaduro, también denominado transcrito primario, a partir de un gen.
- El procesamiento del transcrito primario, esto es, de la introducción de una serie de modificaciones postranscripcionales (introducción de una caperuza de guanina en el extremo 5' y de una cola de poliadeninas en el extremo 3' y eliminación de los intrones), de modo que se obtiene un mRNA maduro.
- La degradación del mRNA.
- La traducción o síntesis de una proteína inmadura a partir del mRNA.
- La maduración de la proteína mediante la introducción de modificaciones postraduccionales (como hidroxilaciones, glucosilaciones, acilaciones, fosforilaciones, introducción de puentes disulfuro, etc.).
- La degradación de la proteína.
- Y, en último lugar, el direccionamiento y transporte de la misma hasta su destino final.

Todos los procesos mencionados se encuentran sometidos a control o regulación en la célula. Sin embargo, al igual que en cualquier ruta metabólica, y en definitiva ésta es la ruta de la expresión de los genes, el principal punto de control se ejerce al principio de la vía. Es decir, el principal punto de regulación recae en el proceso de transcripción y, más específicamente, en la fase de inicio de la transcripción.

Este Capítulo tiene como objetivo general el estudio de los mecanismos de control de la expresión génica en los organismos eucariotas. Se dedica una atención especial a la regulación de la fase de inicio de la transcripción por ser el punto de control más importante. Como se verá, en el control del inicio de la transcripción intervienen regiones del DNA reguladoras a las que se une la maquinaria transcripcional. Esta maquinaria está formada por la RNA polimerasa, la enzima encargada de sintetizar el RNA, y unas proteínas reguladoras denominadas factores de transcripción. Estos factores son esenciales porque ayudan a la RNA polimerasa a encontrar el sitio de inicio de la transcripción. Dependiendo del tipo de factores de transcripción que se unan, se producirá la activación o represión del gen, si bien lo más usual en eucariotas son las activaciones.

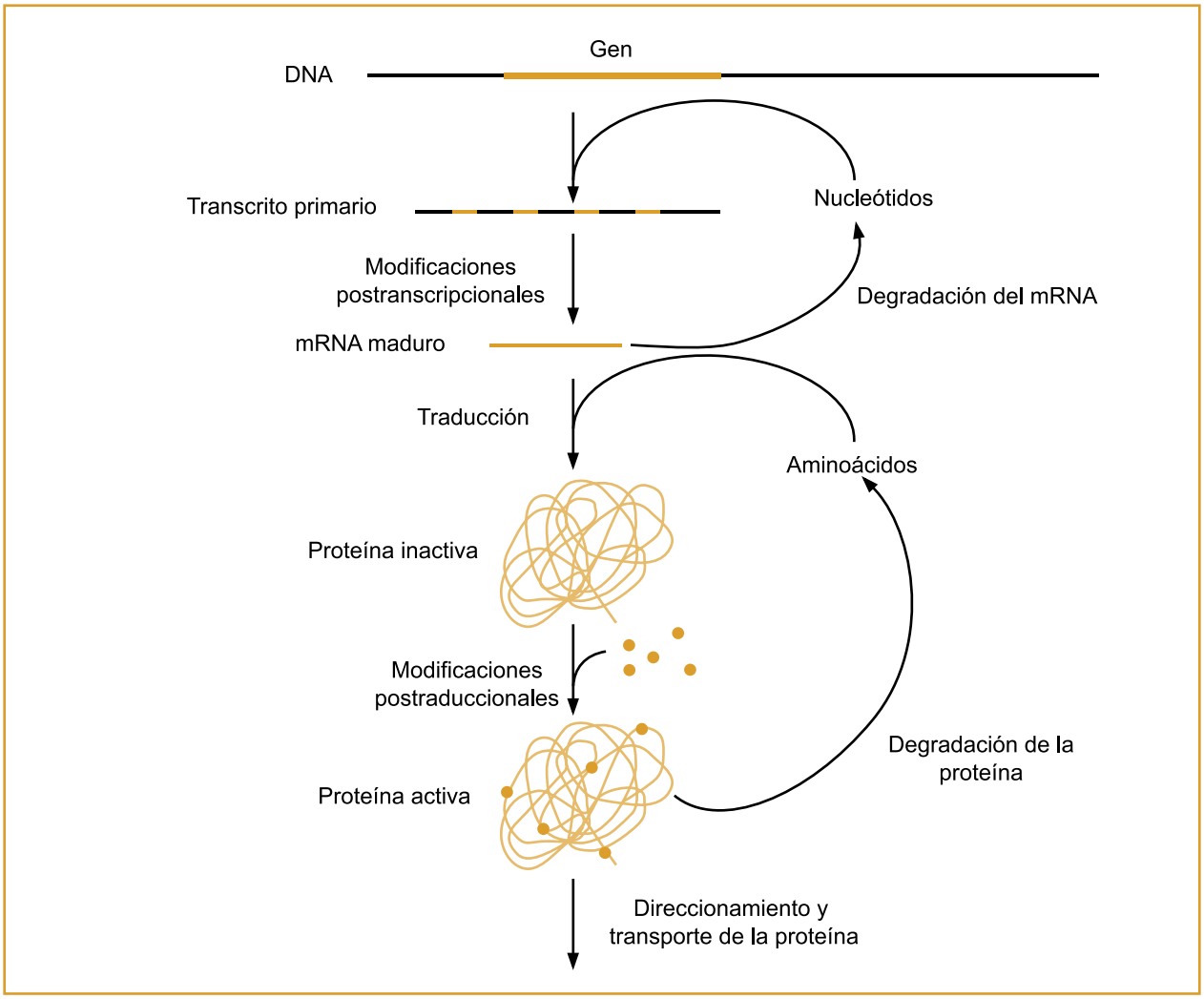


Figura 1. *Procesos que forman la ruta de la expresión génica en organismos eucariotas.*

El Capítulo comienza describiendo cómo se organizan los genes eucariotas, haciendo especial hincapié en los genes de clase II por ser los más abundantes y los que codifican polipéptidos. Se estudian, asimismo, las secuencias de DNA que intervienen en la regulación de la transcripción de estos genes. Sigue la descripción de unas proteínas esenciales en la regulación génica eucariota, los factores de transcripción, clasificándose de acuerdo con las secuencias reguladoras a las que se unen. A continuación, se estudian la estructura y los mecanismos de acción de los factores de transcripción y, más adelante, se trata de forma breve la regulación de la transcripción de los genes de clases I y III. Por último, se dedica también atención a otros puntos de regulación de la expresión génica distintos de la transcripción.

2. Organización génica en organismos eucariotas

Para conocer cómo tiene lugar la regulación de la transcripción en eucariotas, conviene recordar cómo se organizan sus genes. Se distinguen tres tipos de genes en los organismos eucariotas: de clases I, II y III, según su transcripción dé lugar, fundamentalmente, a rRNA (RNA ribosómico), mRNA (RNA mensajero) o tRNA (RNA de transferencia), respectivamente. Este Capítulo se centra en la regulación de la expresión de los genes de clase II, que son los más abundantes.

En todo gen de clase II se distinguen dos partes diferenciadas **(Figura 2)**. La parte estructural es codificante, tiene mensaje genético, y es la que dará lugar al mRNA. Corriente arriba de la parte

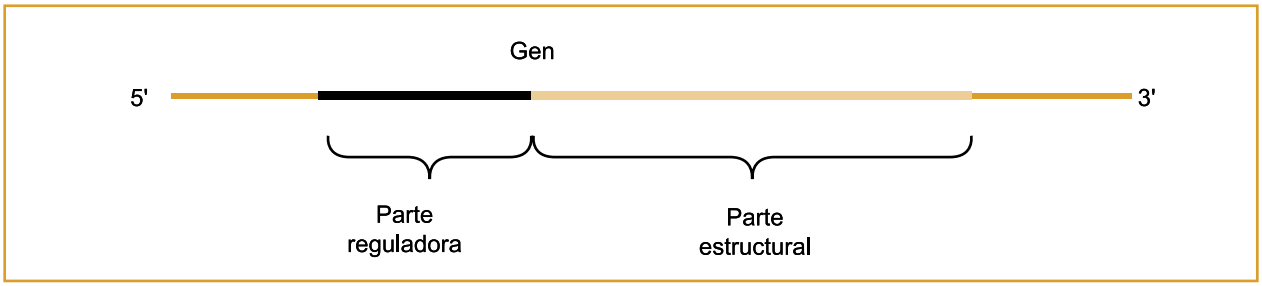


Figura 2. *Organización de los genes eucariotas de clase II.*

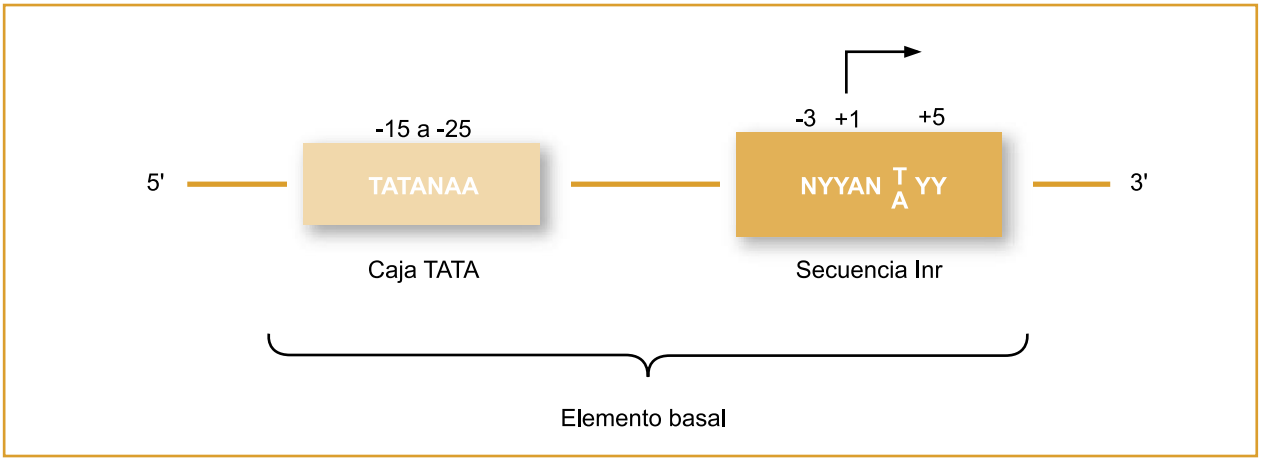


Figura 3. *Elemento basal del promotor. N: un nucleótido cualquiera; Y: un nucleótido pirimidínico cualquiera; Inr: secuencia iniciadora.*

estructural, esto es, más hacia el extremo 5', se sitúa la parte reguladora o promotor. Esta última no es codificante, es decir, no contiene mensaje genético, pero es la región del gen encargada de regular el inicio de la transcripción del mismo. Los promotores de los genes reciben también la denominación de factores que actúan en *cis* (o, simplemente, factores *cis*), para dar a entender que se encuentran situados en la misma molécula de DNA cuya transcripción controlan.

La RNA polimerasa II eucariota (RNA Pol II), enzima que se encarga de la transcripción de esta clase de genes, no es capaz de reconocer el sitio de inicio de la transcripción (el primer nucleótido a transcribir, que se representa como +1) si previamente no se han unido al promotor unas proteínas auxiliares que reciben la denominación genérica de **factores de transcripción**. A cada promotor se une un número variable de factores de transcripción. Pueden definirse como todas aquellas proteínas necesarias para el inicio de la transcripción y que no forman parte de la RNA polimerasa. El papel que estos factores tienen en la regulación de la transcripción es crucial, pues sobre ellos recae la responsabilidad de que la RNA Pol II reconozca al promotor. Los factores de transcripción se denominan también factores que actúan en *trans* (o, simplemente, factores *trans*) para dar a entender que, como proteínas que son, proceden a su vez de la expresión de otros genes, de otras moléculas de DNA, las cuales se encuentran situadas en posiciones distintas del gen cuya transcripción regulan.

3. Elementos que forman un promotor

Un promotor de clase II puede estar formado hasta por tres tipos distintos de elementos o regiones reguladoras: basal, proximal y distal.

La función del **elemento basal** (Figura 3) es la de definir el punto de inicio de la transcripción, es decir, el nucleótido +1. Este elemento está

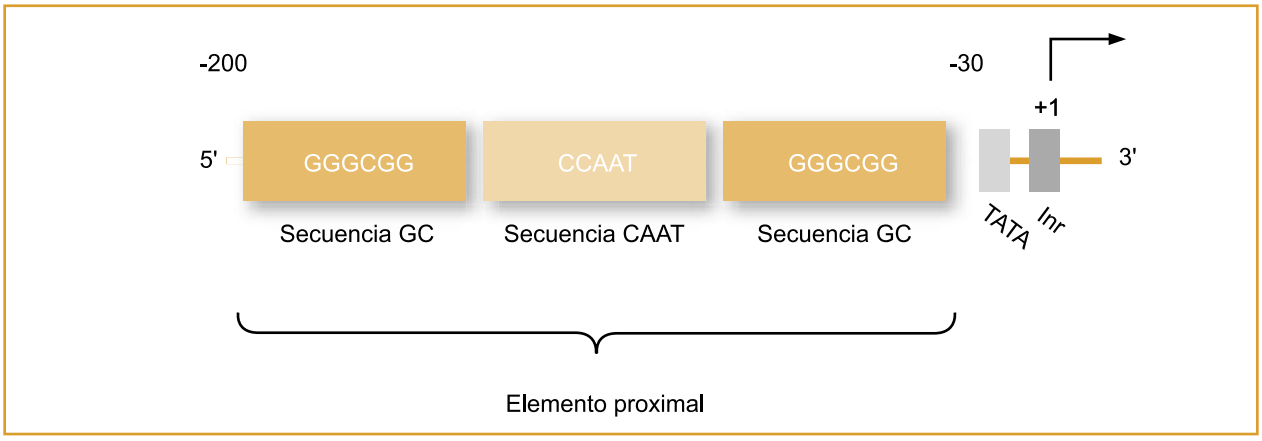


Figura 4. *Elemento proximal del promotor. Inr: secuencia iniciadora.*

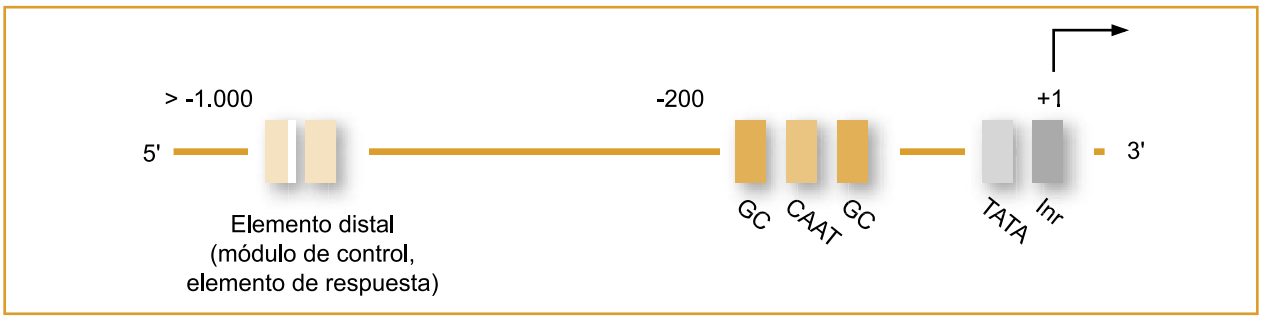


Figura 5. *Elemento distal del promotor. Inr: secuencia iniciadora.*

constituido por unas secuencias que son esenciales para que comience la transcripción, entre las cuales las más frecuentes son la secuencia iniciadora (Inr) y la caja TATA. Inr se sitúa entre las posiciones -3 a +5 del gen, su secuencia consenso es NYYANT/AYY (donde N es cualquier nucleótido e Y un nucleótido de pirimidina), e incluye el punto de inicio de la transcripción (+1), que en la mayoría de los casos es un nucleótido de adenina. Corriente arriba de Inr se sitúa la caja TATA o caja de Hogness. Ésta se denomina así porque su secuencia consenso es TATANAA (donde N es cualquier nucleótido), y suele situarse en torno a las posiciones -15 a -25 del gen.

En la mayoría de los casos, la presencia únicamente del elemento basal no es suficiente para que dé comienzo la transcripción génica. Es necesaria, además, la presencia de un **elemento proximal** (Figura 4). Éste se sitúa corriente arriba del elemento basal, y se denomina proximal porque se sitúa cerca del elemento basal. Se suele extender entre las posiciones -30 a -200 del promotor. Su función es la de definir la frecuencia con la que va a iniciarse el proceso de transcripción y también está constituido por secuencias típicas. Las más frecuentes son las secuencias CAAT y las secuencias GC. Estas últimas se caracterizan por que en ellas abundan los nucleótidos de guanina y citosina. Además, suelen encontrarse en copias múltiples y a ambos lados de la secuencia CAAT, e incluso en cualquier orientación.

Algunos genes están sometidos a una regulación más compleja, que recae sobre los **elementos distales** (Figura 5). Estos elementos reciben otras denominaciones, como la de elementos de respuesta. El término distal indica que se sitúan en posiciones muy alejadas del punto de inicio de la transcripción, incluso a miles de pares de bases. Otras de sus características es que pueden encontrarse corriente arriba o abajo de dicho punto, así como en cualquier orientación. Se distinguen dos modalidades:

a) Los **potenciadores** (también llamados intensificadores, activadores, estimuladores o amplificadores). Se trata de secuencias de DNA que aumentan la velocidad de inicio de la transcripción.

b) Los **silenciadores** (o inhibidores). Son secuencias de DNA que disminuyen la velocidad de inicio de la transcripción.

El concepto de promotor es flexible. La visión más moderna considera promotor el conjunto de todas las secuencias reguladoras de un gen (basales, proximales y distales). No obstante, en muchos textos y publicaciones se considera promotor sólo a aquellas secuencias reguladoras que se encuentran cercanas (basal y proximal) al sitio de inicio de la transcripción aunque en la regulación del gen intervengan otras secuencias más alejadas, como los potenciadores.

4. Tipos de factores de transcripción

Los factores de transcripción (TF) se pueden clasificar de diversas maneras. Una primera posibilidad es la de dividirlos en activadores y represores según el efecto que tengan sobre la transcripción génica. Hay que destacar que en organismos eucariotas se funciona fundamentalmente mediante la activación de genes. Por tanto, la mayoría de los TF son activadores. Sin embargo, cada vez se descubren más TF represores.

Según el tipo de elemento en el promotor al que se unen, los TF se pueden clasificar en:

a) Basales o generales.
b) Proximales o corriente arriba.
c) Distales o inducibles.

4.1. TF basales y proximales

Los TF basales o generales son los que se unen al elemento basal del promotor. Por ello, actúan de mediadores para que se una la RNA Pol II y activan la enzima para que comience a sintetizar el RNA. En definitiva, promueven la formación de un complejo multimolecular formado por el elemento basal del promotor, la RNA Pol II y ellos mismos. Son proteínas muy conservadas a lo largo de la evolución y la mayoría suele estar formada por distintas subunidades proteicas. Reciben un nombre que viene dado por las siglas TF (del inglés ***T****ranscription* ***F****actor*), un número romano (I, II y III, según la clase de genes de que se trate) y una letra.

Hoy día, se aceptan dos modelos distintos para tratar de explicar cómo estos TF generales se unen al elemento basal. El primer modelo es el llamado ordenado, secuencial o escalonado. Se denomina así porque, tal como se ha demostrado *in vitro*, los TF generales se unen siguiendo un orden muy específico, que sería el siguiente **(Figura 6)**:

1. El primer factor que se une es TFIID, el cual está formado por dos tipos diferentes de subunidades: la proteína de unión a la caja TATA (TBP), y los factores asociados a TBP (TAF). Una vez formado por asociación entre TBP y los TAF, el TFIID se une a la secuencia TATA del DNA en el surco menor. En realidad, se trata del único factor que posee especificidad por una secuencia de DNA.

2. A continuación, se unen TFIIA y TFIIB, en ese orden.

3. Seguidamente, otro factor llamado TFIIF se une a la RNA polimerasa II (RNA Pol II), y el complejo formado se une al elemento basal donde ya están situados TFIID, TFIIA y TFIIB.

4. Por último, sigue la unión de los factores TFIIE, TFIIJ y TFIIH. Este último factor destaca porque posee diversas actividades enzimáticas (quinasa, helicasa y reparadora del DNA). Tras su unión, TFIIH utiliza su actividad quinasa y fosforila a la RNA Pol II. Ello desencadena un fenómeno conocido como vaciado del promotor, que consiste en que varios de los TF generales anteriormente mencionados se desunen. Este fenómeno, además, marca la transición entre las fases de inicio y elongación de la transcripción.

El segundo modelo aceptado es el de la holoenzima. De acuerdo con este modelo, algunos de los TF generales mencionados (TFIIF, TFIIB, TFIIE y TFIIH) se irían uniendo a la RNA Pol II de forma que se constituiría una holoenzima **(Figura 7)**, la cual, a su vez, se uniría al elemento basal, al que previamente ya se habría unido TFIID.

En realidad, no se sabe cómo ocurre el proceso *in vivo*, aunque se piensa que debe ser a través de una combinación de ambos modelos. En cualquier caso, el resultado es el mismo, la formación de un complejo de iniciación **(Figura 6)**.

Los TF proximales o corriente arriba son los que se unen al elemento proximal del promotor, de forma que aumentan la eficiencia de formación del complejo de inicio. Como ejemplos pueden citarse los factores CTF y Sp-1, que se unen a las secuencias CAAT y GC, respectivamente **(Figura 8)**.

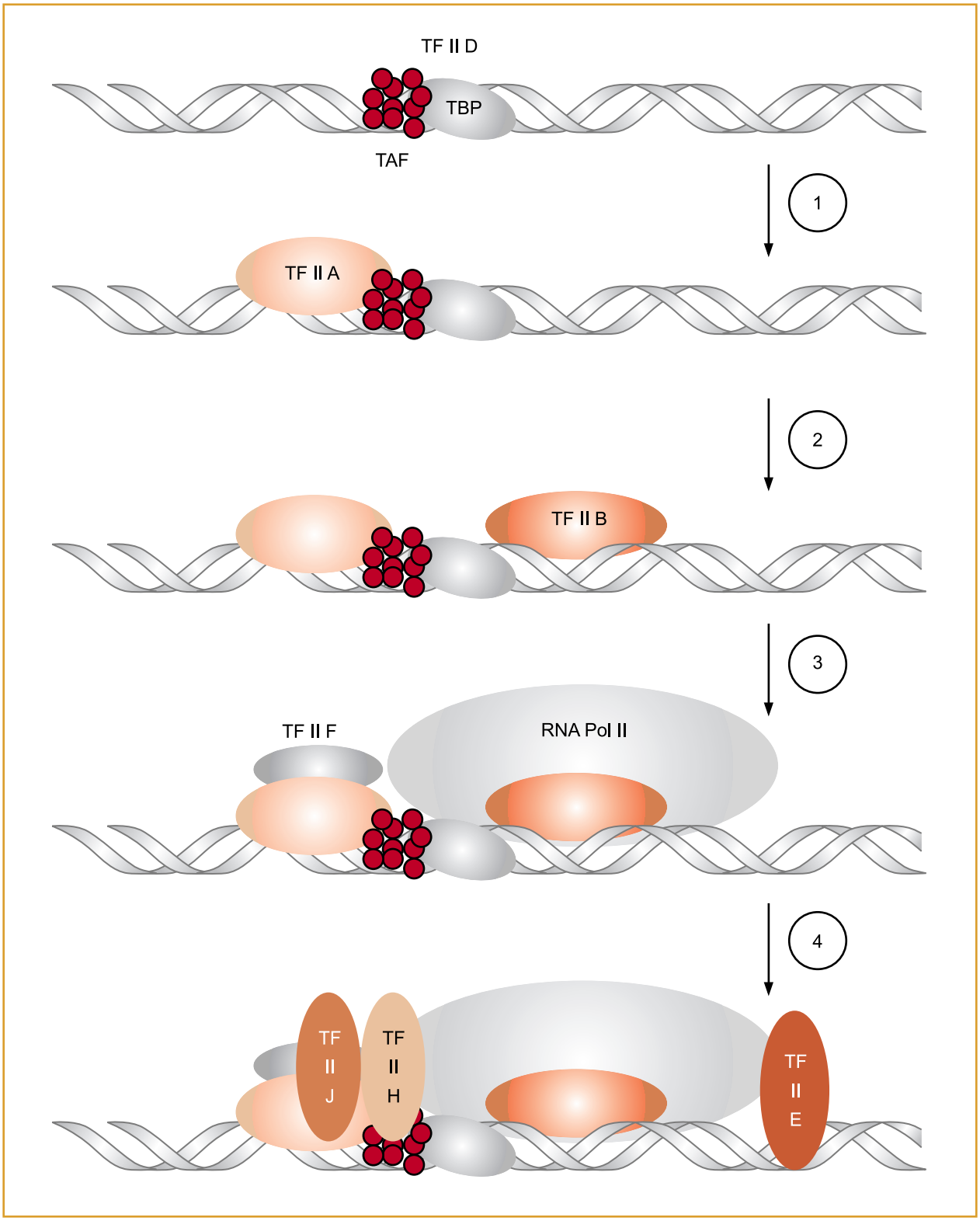


Figura 6. *Ensamblado de los factores de transcripción generales según el modelo ordenado o escalonado. TF: factor de transcripción; TBP: proteína de unión a la caja TATA; TAF: factores asociados a TBP; RNA Pol II: RNA polimerasa II.*

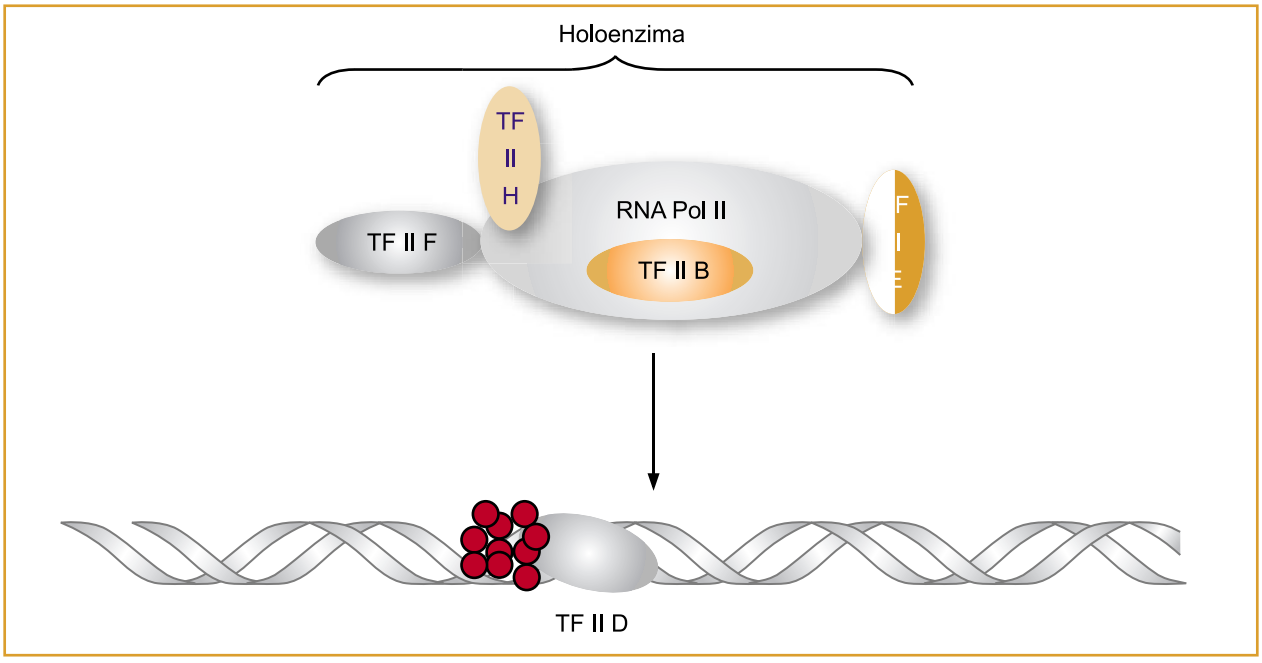


Figura 7. *Ensamblado de los factores de transcripción generales según el modelo de la holoenzima. TF: factor de transcripción; RNA Pol II: RNA polimerasa II.*

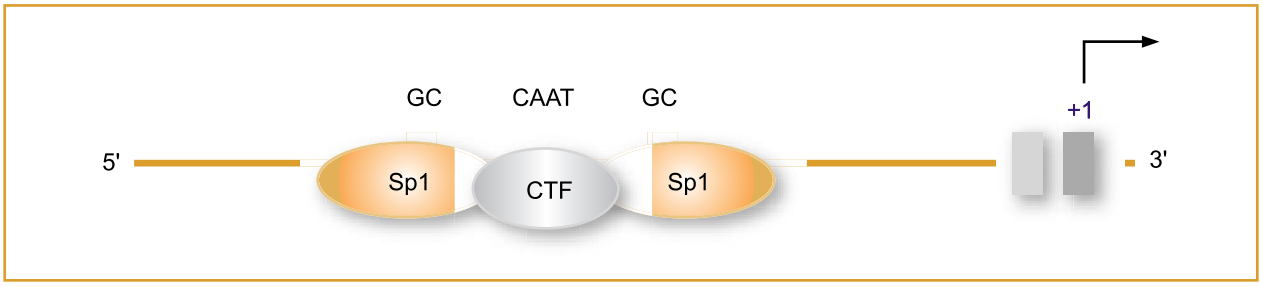


Figura 8. *Factores de transcripción proximales o corriente arriba. Se muestran algunos de estos TF como Sp1 y CTF.*

Los promotores que sólo contienen elementos reconocidos por factores de transcripción basales y proximales controlan los denominados **genes constitutivos, caseros o domésticos**. Estos genes son los que se expresan de forma constante a lo largo del ciclo celular y, además, en todas las células del organismo. Se trata de genes cuyos productos son indispensables para la célula.

4.2. TF distales

Los TF distales o inducibles son los que se unen a los elementos distales del promotor. Cabe preguntarse cómo es posible que estos TF regulen la transcripción génica uniéndose al promotor en zonas tan alejadas del punto de inicio. La explicación radica en la flexibilidad de la molécula de DNA, la cual puede plegarse de la forma esquematizada en la **Figura 9**, de tal modo que se permite el acercamiento e interacción de los tres tipos de TF entre sí y con la propia RNA Pol II.

Los TF inducibles se sintetizan o activan en momentos determinados de la vida de la célula y en tejidos específicos. Debido a ello, la expresión de los genes cuya transcripción controlan está regulada en tiempo y espacio. A estos genes se les denomina **inducibles, regulables o de expresión diferencial**. Son genes que se expresan muy activamente en unas ocasiones y no se expresan en absoluto en otras. Por consiguiente, a diferencia de los TF generales y proximales, los TF inducibles no

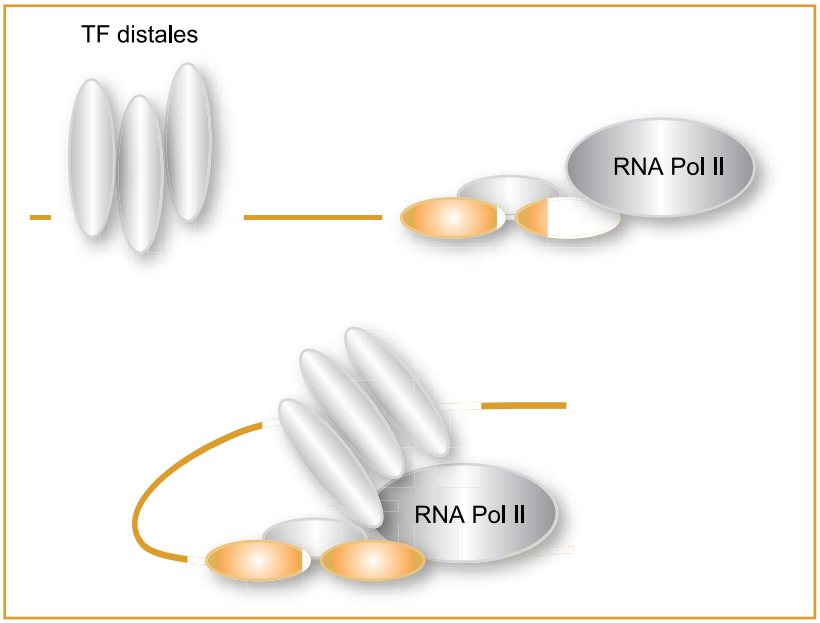


Figura 9. *Factores de transcripción distales. La interacción entre todos los factores de transcripción y la RNA Pol II se produce gracias a la flexibilidad del DNA. RNA Pol II: RNA polimerasa II.*

son sintetizados por todos los tipos celulares del organismo ni de forma constante a lo largo del ciclo celular. Estos TF son producidos en respuesta a las señales que le llegan a la célula (hormonas, fármacos y nutrientes, entre otras) y son los responsables de la especificidad de tejido, esto es, de que una célula nerviosa sea diferente de una célula hepática aun teniendo ambas el mismo genoma.

La actividad de los TF inducibles puede regularse de diversas maneras:

• Un TF es específico de tejido porque únicamente es producido por un tipo particular de célula. Es lo que ocurre con las proteínas homeodominio, que se encargan de controlar el desarrollo de los organismos.

• Un TF presente en la célula en forma inactiva puede activarse mediante la introducción de alguna modificación covalente (como una fosforilación). La modificación puede volverlo activo porque hace que el factor cambie de conformación de modo que entonces sí puede translocar al núcleo celular y unirse a su secuencia en el DNA. Como ejemplo de este tipo de activación por fosforilación se puede citar el factor CREB, o proteína de unión al elemento de respuesta al cAMP (*ver Capítulo 1.5, Figura 16*). Otras modificaciones covalentes son la acetilación, metilación, desfosforilación, etc.

• Un TF dimérico puede tener parejas (subunidades) alternativas. Una subunidad puede volverlo inactivo, mientras que la síntesis de la subunidad activa puede desplazar la inactiva. Un ejemplo lo constituyen las proteínas MyoD/Id.

• Un TF puede ser sintetizado como precursor inactivo que se encuentra anclado a alguna de las membranas de la célula, como el retículo endoplásmico o la membrana nuclear. La escisión proteolítica liberaría la forma activa que, a continuación, se podría desplazar al núcleo celular.

Como ejemplo se puede citar el factor SREBP, o proteína de unión al elemento de respuesta a esteroles. La forma inactiva de este factor se encuentra embebida en el retículo endoplásmico (RE) gracias a dos segmentos transmembrana separados entre sí por un bucle o lazo corto **(Figura 10)**. Los extremos amino y carboxilo terminales se sitúan en el citosol, mientras que el bucle está en el lumen del RE.

El extremo amino terminal contiene un dominio de unión al DNA (se trata de una hélice-lazo-hélice-cremallera de leucina) (*ver apartado 5.1.5*), un dominio transactivador (*ver apartado 5.2*), un dominio para la dimerización (*ver apartado 5*) y señales para la localización nuclear. El extremo carboxilo terminal es también importante pues permite interaccionar con proteínas que van a intervenir en la activación del factor. En el RE, el extremo carboxilo de SREBP se encuentra interaccionando con el extremo carboxilo de otra proteína denominada SCAP o proteína activadora del corte de SREBP. El extremo amino terminal de SCAP forma ocho segmentos transmembrana y actúa como un sensor de la concentración de esteroles. Así, cuando la concentración intracelular de colesterol disminuya, ello será detectado por SCAP y se producirá la translocación de todo el complejo (SREBP-SCAP) al aparato de Golgi.

Allí interviene una serín proteasa llamada S1P (proteasa de sitio 1) que cortará el lazo intraluminal de SREBP, de modo que este último quedará

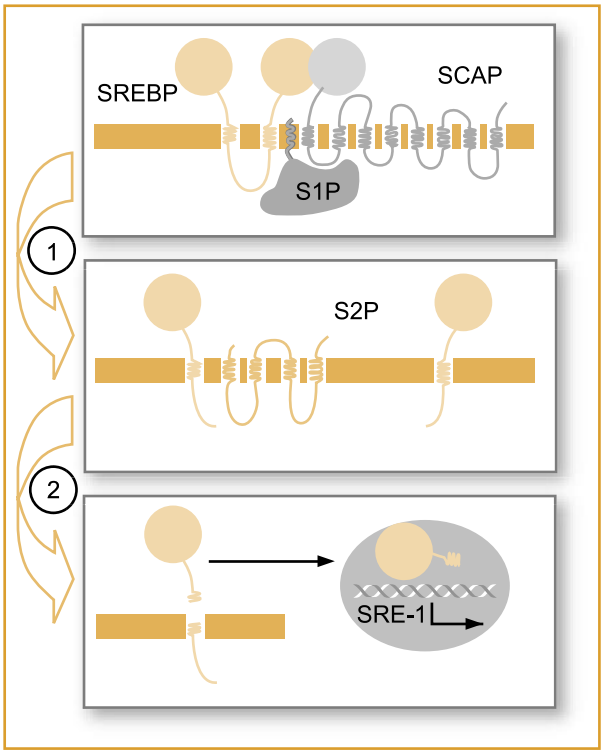


Figura 10. *Estructura y activación de la proteína de unión al elemento de respuesta a esteroles (SREBP). SCAP: proteína activadora del corte de SREBP; S1P: proteasa de sitio 1. S2P: proteasa de sitio 2. SRE-1: elemento de respuesta a esteroles.*

escindido en dos mitades, las cuales seguirán ancladas al aparato de Golgi. Después del primer corte actúa una metaloproteasa llamada S2P (proteasa de sitio 2), que corta dentro del segmento transmembrana de la mitad aminoterminal de SREBP. Este segundo corte no tiene lugar si no se produce el primero. El resultado final es la activación del factor de transcripción. La señal de localización nuclear queda expuesta y guía la forma activa de SREBP al núcleo, donde la hélice-lazo-hélice-cremallera de leucina se unirá al elemento de respuesta a esteroles.

Entre los genes cuya transcripción se ve activada por SREBP pueden citarse genes que participan en: la biosíntesis de colesterol (HMG-CoA sintasa y HMG-CoA reductasa), la captación de lipoproteínas de baja densidad (receptor de LDL), la síntesis de ácidos grasos (ácido graso sintasa y desaturasas), y la síntesis de triacilglicéridos y el metabolismo de la glucosa.

• Un TF puede activarse por la unión de un ligando. En esta modalidad de activación se incluyen los denominados receptores intracelulares (receptores de hormonas esteroídicas, hormonas tiroideas, ácido retinoico, calcitriol y receptores activados por proliferadores de peroxisomas o PPAR) (*ver Capítulo 1.31*).

Estos receptores están relacionados estructuralmente y constituyen la superfamilia de receptores intracelulares. Todas las moléculas que constituyen los ligandos de estos receptores se caracterizan por ser hidrofóbicas, de manera que pueden difundir directamente a través de la membrana plasmática de la célula. Una vez dentro, el ligando se une al receptor, el cual se activará y regulará la transcripción de genes específicos.

Los receptores intracelulares son proteínas que presentan, por tanto, una dualidad: por un lado, son receptores puesto que unen ligandos; por otro, son factores de transcripción inducibles. En la estructura de los receptores intracelulares se distinguen varios dominios (*ver Figura 14 del Capítulo 1.5*). En el extremo amino terminal se localiza el dominio transactivador (*ver apartado 5.2*). A continuación, siguen el dominio de unión al DNA, que suele formar dos dedos de zinc (*ver apartado 5.1.6*), una región que actúa de bisagra, y, finalmente, el dominio de unión del ligando en el extremo carboxilo terminal.

Los receptores intracelulares pueden encontrarse en el citoplasma o en el núcleo de la célula. En el caso de los receptores que se localizan en el citoplasma (como el receptor del cortisol), la unión del ligando a su dominio correspondiente produce un cambio conformacional gracias a la región bisagra. Ese cambio de conformación le permite translocar al núcleo y unirse a su elemento de respuesta, puesto que los dominios de localización nuclear y de unión al DNA quedan ahora expuestos.

Los receptores nucleares (como el de retinoides), en cambio, ya se encuentran en ese compartimento celular y unidos al DNA. Sin embargo, la transcripción no se activa porque el receptor tiene unidos correpresores (*ver apartado 6*). La activación ocurrirá cuando el ligando se una, pues ello producirá el cambio conformacional mencionado, el cual hará que se recluten coactivadores (*ver apartado 6*).

• Un TF puede ser inactivo porque esté unido a una subunidad inhibidora que enmascara su dominio de localización nuclear, de tal modo que el

factor queda secuestrado en algún compartimento celular. La degradación de la subunidad inhibidora debido a algún estímulo dejaría expuesto el dominio de localización nuclear. Como ejemplo puede citarse el factor nuclear-κB (NF-κB).

NF-κB es un factor de transcripción que actúa como un sensor del estado redox de la célula. El prototipo de NF-κB es un heterodímero formado por las subunidades p65 y p50, al que se une una subunidad inhibidora que se denomina IκB (*ver Figura 22 del Capítulo 1.5*). La subunidad inhibidora enmascara el dominio de localización nuclear, de modo que el factor permanece retenido en el citoplasma celular. Existen otras variantes de NF-κB, todas formadas por proteínas de la familia Rel, que se caracterizan por poseer dominios para la dimerización, dominios para la interacción con subunidades inhibidoras y señales de localización nuclear.

La activación de NF-κB corre a cargo de una proteín quinasa que fosforila a IκB. Esta fosforilación constituye una señal para que IκB sea marcada con ubiquitina y degradada por el proteasoma. La degradación de IκB, en definitiva, deja expuesta la señal de localización nuclear de forma que el factor entonces activo transloca al nucleo y se une al DNA.

El proceso de activación de NF-κB que se ha descrito puede ser desencadenado por numerosos estímulos como la luz ultravioleta, la radiación ionizante, los microorganismos, citokinas (como interleukinas y el factor de necrosis tumoral-α, TNF-α), factores de crecimiento y especies reactivas de oxígeno. Entre los genes diana de NF-κB pueden mencionarse los que codifican citokinas (como el propio TNF-α y algunas interleukinas), moléculas de adhesión, proteínas de fase aguda, proteínas relacionadas con el ciclo celular y el de la propia subunidad inhibidora IκB.

5. Estructura de los TF

En la molécula de un TF pueden llegar a distinguirse hasta tres dominios diferentes:

- Dominio de unión al DNA. Es el que permite al TF interaccionar con el promotor.
- Dominio transactivador. Es el responsable de la activación de la transcripción.
- Dominio de dimerización. La gran mayoría de TF necesita formar dímeros (homo o heterodímeros) para llevar a cabo su actividad.

El TF no necesariamente posee los tres tipos de dominio. Así, existen algunos que sólo tienen dominio de unión al DNA, y otros sólo dominio transactivador.

5.1. Dominio de unión al DNA

Este dominio permite al TF interaccionar con el promotor porque es capaz de reconocer secuencias cortas de DNA. Sólo supone una pequeña parte de la totalidad de la proteína. La unión al DNA se produce fundamentalmente mediante puentes de hidrógeno e interacciones de tipo hidrofóbico.

Como podrá comprobarse a continuación, lo más frecuente es que el dominio de unión al DNA interaccione con el surco mayor de la doble hélice, aunque no siempre es así (la proteína TBP mencionada anteriormente y otros factores se unen al surco menor). Hay una explicación para ello. Los TF actúan reconociendo secuencias cortas de pares de bases. Originalmente, se pensó que los TF accedían directamente a los puentes de hidrógeno que mantienen los pares de bases en el interior de la doble hélice. Hoy, en cambio, se sabe que el exterior de la doble hélice constituye una información que va a ser reconocida o leída por estas proteínas reguladoras sin necesidad de abrir la doble hélice **(Figura 11)**. El borde de cada par de bases (GC, CG, TA o AT) queda expuesto en la superficie de la doble hélice. Cada par expone, tanto en el surco mayor como en el menor, un patrón diferente de grupos hidrofóbicos, donantes de hidrógeno y aceptores de hidrógeno, el cual será reconocido por el TF. Como puede apreciarse en la **Figura 12**, es el surco mayor el que ofrece cuatro patrones de grupos distintos, específicos para cada uno de los cuatro pares de bases posibles. El surco menor, en cambio, sólo ofrece dos patrones de grupos.

Cuando se compara la estructura de multitud de TF distintos se comprueba que sus dominios de unión al DNA pueden incluirse, en el 80% de los casos, dentro de una de las categorías que se indican más adelante. Dado que estos dominios se repiten en los distintos TF, se prefiere hablar de

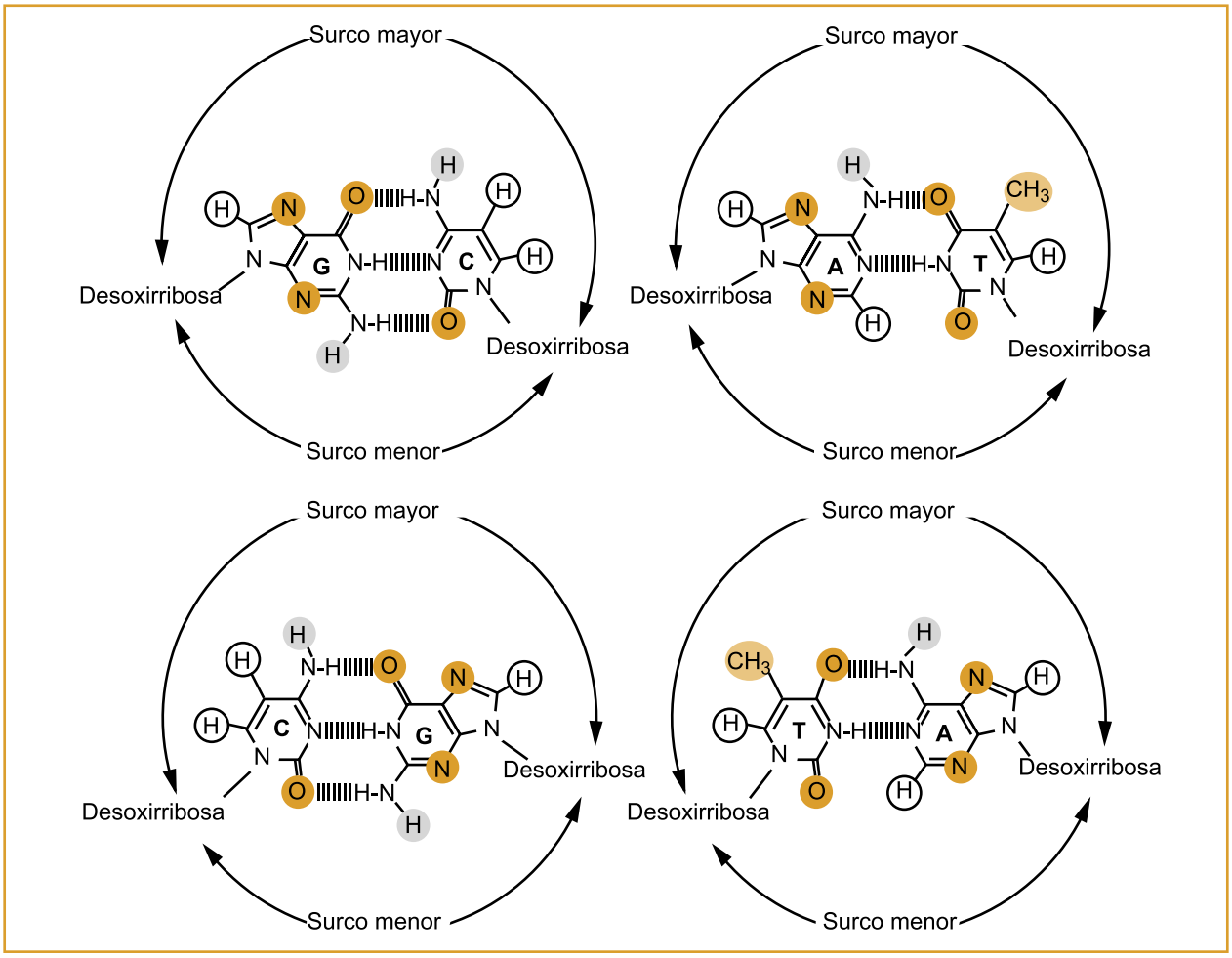


Figura 11. *Los distintos pares de bases del DNA pueden ser reconocidos desde los bordes sin necesidad de abrir la doble hélice. Se muestran las cuatro posibles configuraciones de los pares de bases, con los grupos donantes de H en gris y los grupos aceptores de H en naranja oscuro. Los grupos metilo, capaces de formar interacciones hidrofóbicas, se representan en naranja claro. Los átomos de hidrógeno unidos a los átomos de carbono no pueden formar puentes de H y se representan en blanco.*

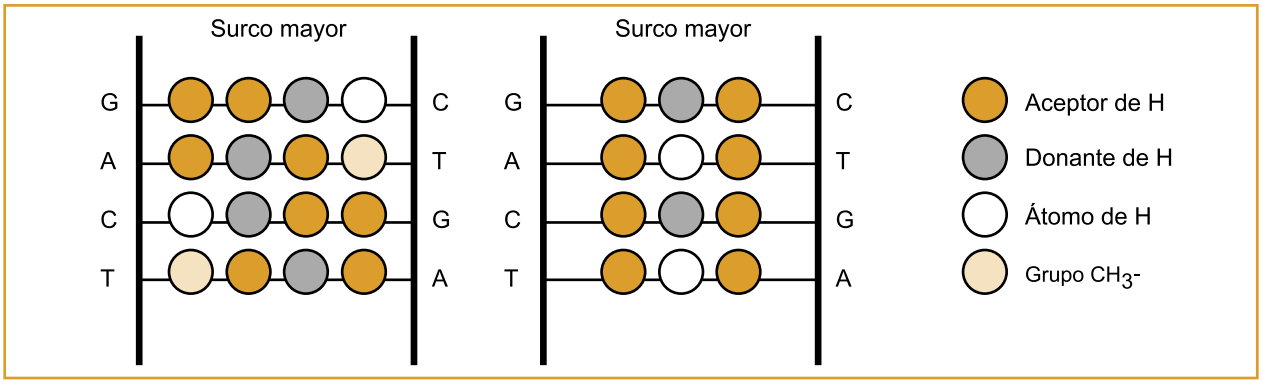


Figura 12. *El borde de cada par de bases, visto desde los surcos mayor y menor, exhibe un patrón distinto de donantes de H, aceptores de H y grupos metilo. Desde el surco mayor, cada una de las configuraciones de los cuatro pares de bases exhibe un patrón único. En cambio, desde el surco menor, los patrones son similares para los pares G-C y C-G, así como para A-T y T-A.*

Figura 13. *Estructura del motivo hélice-giro-hélice.*

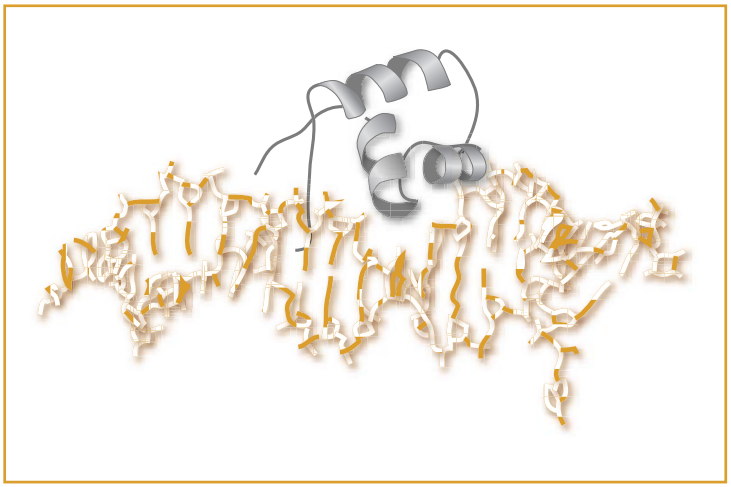


Figura 14. *Estructura del motivo homeodominio.*

motivos estructurales de unión al DNA. Los principales motivos son:

- Hélice-giro-hélice.
- Homeodominio.
- Hélice-lazo-hélice.
- Cremallera de leucina.
- Dedos de zinc.

De la descripción detallada de estos motivos que se hace a continuación, podría deducirse que sólo las hélices α son capaces de interaccionar con el DNA. Esto no es así. Es cierto que el diámetro de la hélice α encaja perfectamente en la anchura del surco mayor del DNA, de modo que ambos forman la "pareja perfecta". Sin embargo, también existen factores cuyos dominios de unión al DNA contienen láminas β, y en que también éstas se pueden unir al promotor.

5.1.1. Motivo hélice-giro-hélice (HTH)

También se denomina hélice-vuelta-hélice. En este motivo, la proteína comienza adoptando una estructura secundaria de hélice α que interacciona directamente con las bases nitrogenadas y encaja en el surco mayor del DNA (recibe el nombre de **hélice de reconocimiento**). El motivo continúa con un fragmento corto de aminoácidos sin estructura secundaria definida que constituye el giro o vuelta. Y, por último, el motivo acaba con otra hélice α **(Figura 13)**. La segunda hélice lo que hace es estabilizar la de reconocimiento, puesto que ambas establecen entre sí interacciones hidrofóbicas, de manera que quedan separadas un cierto ángulo.

Este motivo es siempre dimérico, es decir, las proteínas que lo adoptan se asocian con otra proteína que también forma una HTH. Las hélices de reconocimiento de cada monómero encajan en dos surcos mayores consecutivos. Un factor que presenta este motivo es TFIIB.

5.1.2. Motivo homeodominio

Es muy parecido al anterior. Consiste en una hélice-giro-hélice que continúa con un segundo fragmento corto de aminoácidos sin estructura secundaria (giro), una tercera hélice α externa al DNA y, por último, un tercer giro que es capaz de interaccionar con el surco menor del DNA **(Figura 14)**. Es también un motivo dimérico. Lo presentan las proteínas homeodominio, encargadas de controlar el desarrollo de los organismos.

5.1.3. Motivo cremallera de leucina (bZIP)

En este motivo, la proteína adopta una estructura secundaria de hélice α, en la que pueden distinguirse dos partes **(Figura 15)**. La superior es rica en

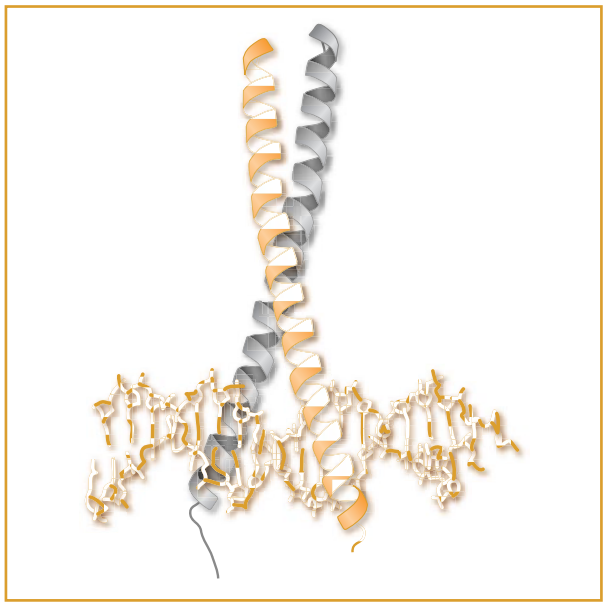


Figura 15. *Estructura del motivo cremallera de leucina.*

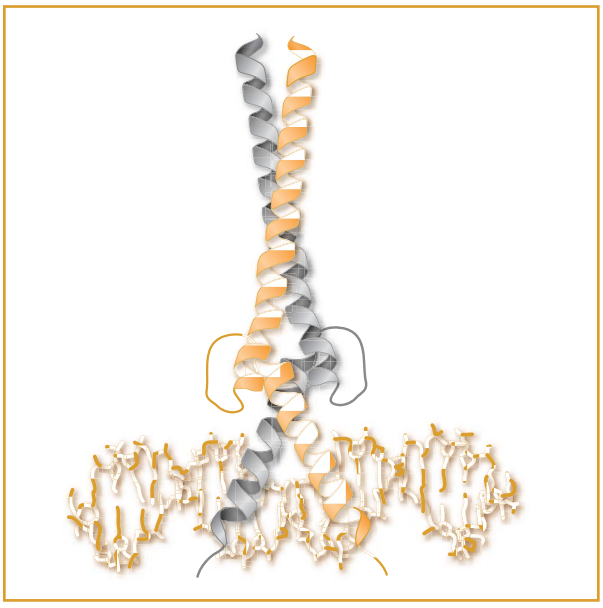


Figura 16. *Estructura del motivo hélice-lazo-hélice.*

el aminoácido leucina (Leu). De hecho, cuando se analiza la estructura primaria de estas proteínas se comprueba que poseen una Leu cada siete residuos. Esto hace que al adoptar la estructura de hélice α quede una Leu situada cada dos vueltas de hélice. La parte inferior de la hélice, en cambio, es rica en aminoácidos básicos, esto es, en aquellos cuya cadena lateral está cargada positivamente a pH fisiológico (lisina, histidina y arginina).

Este motivo es también dimérico. Así, una proteína como la descrita interacciona con otra semejante, es decir, con otra hélice α que posee una parte rica en Leu y otra rica en aminoácidos básicos. En realidad, la parte superior de la hélice constituye el dominio para la dimerización, la cual se establece gracias a las interacciones de tipo hidrofóbico entre las Leu de las dos hélices vecinas. Inicialmente, se pensó que las Leu se disponían de forma interdigitada, recordando a los dientes de una cremallera, de ahí el nombre del motivo. Hoy día se sabe que esto no es así, sino que las Leu de las hélices vecinas se disponen enfrentadas.

El verdadero dominio de unión al DNA está constituido por las partes de las hélices ricas en aminoácidos básicos (hélices de reconocimiento), dado que la abundancia de cargas positivas permite establecer atracciones electrostáticas con los grupos fosfato del DNA. La estructura recuerda a una Y invertida cuyos brazos se unen al DNA. Lo presentan, dicho motivo, factores como AP-1, CREB y C/EBP.

5.1.4. Motivo hélice-lazo-hélice (HLH)

También se denomina hélice-bucle-hélice. Se trata de una hélice α rica en aminoácidos de tipo hidrofóbico (no sólo Leu) que se encuentra separada de una hélice de reconocimiento por un fragmento corto de aminoácidos sin estructura secundaria definida y que constituye el lazo o bucle **(Figura 16)**. Este lazo es más largo que el giro del motivo HTH.

Una proteína como la descrita interacciona con otra semejante de manera que se forma un dímero. La dimerización se establece entre las hélices ricas en aminoácidos hidrofóbicos. El dominio de unión al DNA está formado por las dos hélices de reconocimiento. Lo presentan los TF miogénicos, como MyoD.

5.1.5. Motivo hélice-lazo-hélice-cremallera de leucina (bHLH-ZIP)

Su estructura es semejante a la de las HLH descritas en el apartado 5.1.4 **(Figura 16)**, con la diferencia de que el dominio que permite la dime-

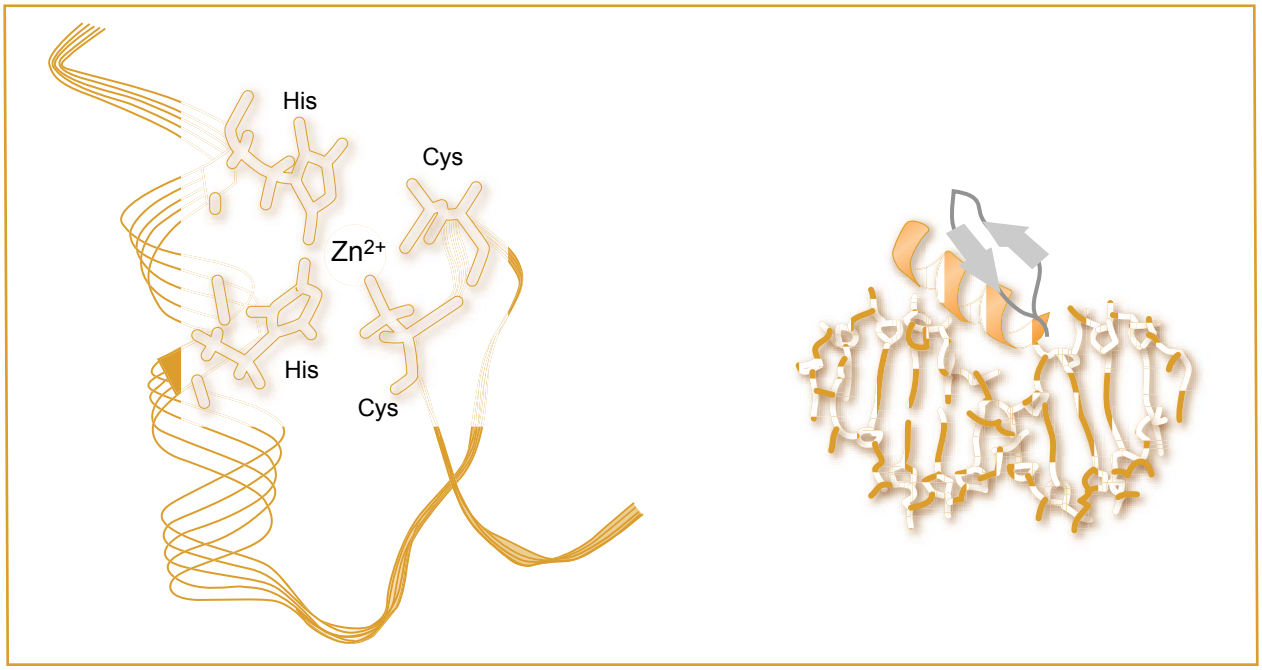


Figura 17. *Estructura del motivo dedo de zinc.*

rización forma una cremallera de leucina. Se trata, por tanto, de una estructura mixta o intermedia entre las HLH y las cremalleras de leucina. Lo presentan factores como SREBP y Mad/Max.

5.1.6. Motivo dedo de zinc

Este motivo consiste en una estructura alargada que recuerda a un dedo **(Figura 17)**. Pueden distinguirse dos mitades en el dedo: la mitad izquierda adopta una estructura secundaria de hélice α, mientras que la mitad derecha adopta la estructura secundaria de dos hebras β de orientación antiparalela. Dos aminoácidos de la mitad izquierda del dedo (dos histidinas) y otros dos de la mitad derecha (dos cisteínas) se unen mediante enlaces de coordinación a un átomo de Zn. Existen diversas variantes de dedos de Zn. Así, en otros casos, el átomo de Zn está unido a cuatro residuos de cisteína.

En cualquier caso, lo usual es que un factor de transcripción que adopta este motivo no forme un único dedo; lo más frecuente es que forme dos o más. Lo presentan los receptores intracelulares como el receptor de glucocorticoides y PPAR, por ejemplo.

5.2. Dominio transactivador

Son dominios capaces de activar la transcripción a través de las interacciones que establecen con la RNA Pol II y TF basales. Se han descrito diversos dominios transactivadores:

• Dominios acídicos. Son los más frecuentes. Los poseen, por ejemplo, el receptor de glucocorticoides, SREBP y multitud de TF de levaduras. Como su nombre indica, se caracterizan por contener una elevada proporción de aminoácidos ácidos. La comparación de la estructura primaria del dominio acídico de numerosos TF ha permitido conocer que no presentan homología entre sí. Es decir, lo importante no es la posición que los aminoácidos ácidos ocupan en el dominio sino, simplemente, que exista tal abundancia de este tipo de aminoácidos. Parece, además, que también es importante para el efecto transactivador la presencia de aminoácidos hidrofóbicos en determinadas posiciones. Estos dominios son capaces de activar la transcripción tanto si el TF se une al DNA cerca como si se une lejos del punto de inicio, esto es, tienen efecto a distancia.

• Dominios ricos en glutamina. Se caracterizan por que presentan una elevada proporción (25%) de este aminoácido y pocos aminoácidos ácidos. Lo poseen TF como Sp-1 y Oct-1. Al igual que en

los dominios acídicos, lo importante para el efecto transactivador es la abundancia de glutaminas y no las posiciones que éstas ocupan en el dominio. A diferencia de los anteriores, en cambio, sólo tienen efecto transactivador si el TF se une cerca del punto de inicio.

• Dominios ricos en prolina. Presentan una elevada proporción de prolina. Está presente en TF como Jun, Oct-2 y CTF/NF-1. Pueden activar la transcripción génica si el TF que lo posee se une tanto cerca como lejos del punto de inicio, aunque en este último caso el efecto es débil.

6. Cofactores

Un tipo de TF que no se ha mencionado hasta ahora son los cofactores. Pueden definirse como TF que carecen de dominio de unión al DNA y que, por lo tanto, para ejercer su actividad necesitan unirse a un TF que sí posea tal dominio. Los cofactores se clasifican en coactivadores y corepresores de acuerdo con el tipo de TF al que se unen.

En definitiva, los TF son capaces de regular la transcripción génica no sólo mediante el establecimiento de interacciones con el DNA (proteína-DNA), sino también con otras proteínas (proteína-proteína).

7. Mecanismos de acción de los TF activadores

Existen varios mecanismos posibles mediante los cuales un TF puede activar la transcripción génica. Una primera posibilidad es a través de un mecanismo directo, es decir, que el TF posea alguno de los tres dominios transactivadores descritos antes.

También existen mecanismos indirectos, que consisten en que el TF produce un remodelado de la cromatina. Para comprender este remodelado, hay que recordar que el DNA eucariota se encuentra empaquetado formando los nucleosomas **(Figura 18)**. Un nucleosoma está formado por DNA y unas proteínas llamadas histonas. Estas proteínas se caracterizan por ser ricas en aminoácidos básicos, es decir, aquellos cuya cadena lateral tiene carga positiva a pH fisiológico (lisina y arginina, sobre todo). El DNA se enrolla alrededor de un octámero formado, a su vez, por la asociación de dos subunidades de histona H2A, dos de H2B, dos de H3 y dos de H4. El DNA da aproximadamente dos vueltas alrededor de este octámero, formando lo que se denomina la partícula núcleo. En la formación del nucleosoma también interviene la histona H1, la cual se coloca en la parte externa de la partícula núcleo y es abrazada por las hebras entrante y saliente del DNA. La asociación del DNA con las histonas tiene lugar gracias a las interacciones electrostáticas que se establecen entre las cargas positivas de los aminoácidos básicos de las histonas y las cargas negativas de los grupos fosfato del DNA.

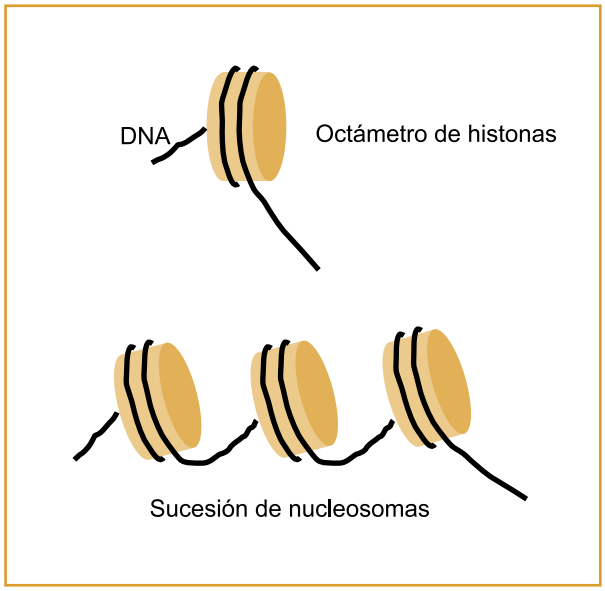


Figura 18. *Estructura de un nucleosoma.*

El remodelado de la cromatina puede ocurrir por dos mecanismos diferentes:

a) Mediante la introducción de modificaciones covalentes en las histonas de los nucleosomas.

b) Por gasto de energía (ATP).

7.1. Remodelado de la cromatina por modificación covalente

Algunos TF remodelan la cromatina porque poseen actividad histona acetil transferasa. Esta actividad enzimática introduce un grupo acetilo en el grupo ε-amino de la cadena lateral de

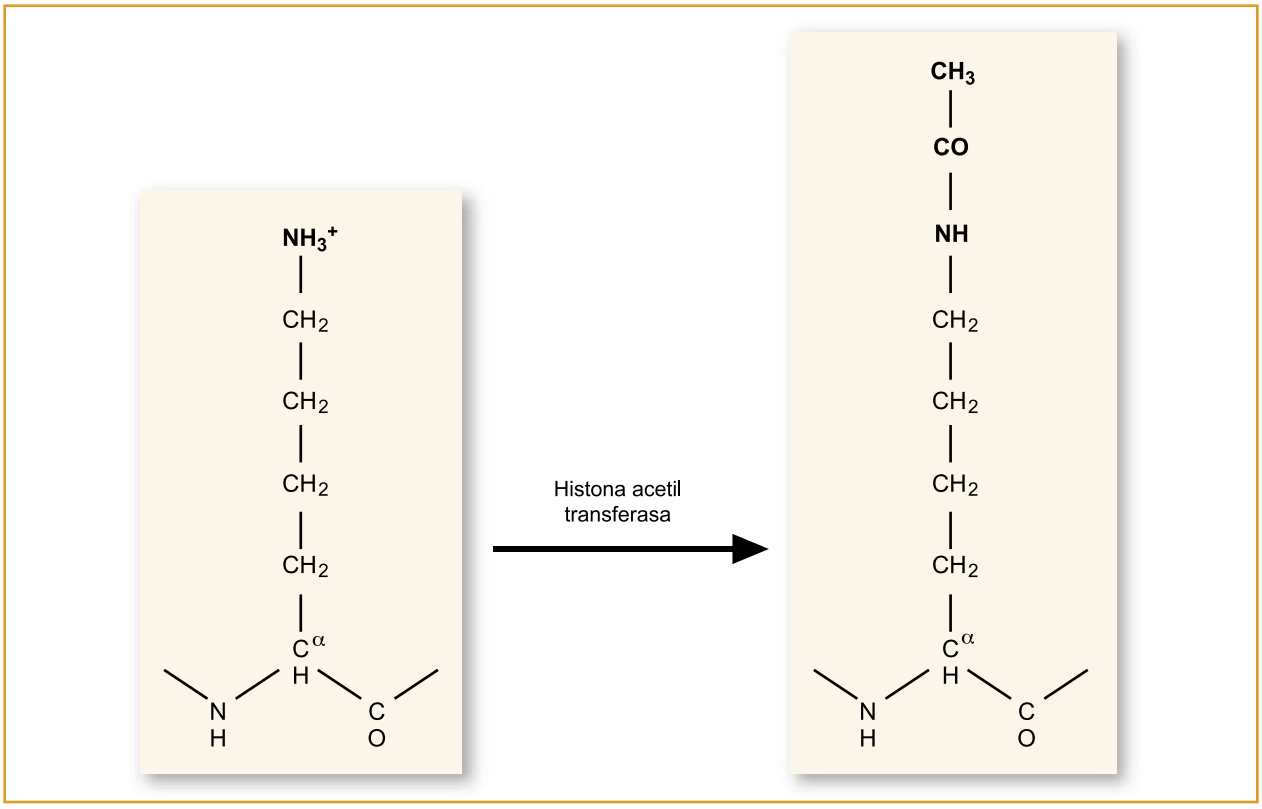


Figura 19. *Acetilación del grupo ε-amino de la leucina.*

las lisinas de los nucleosomas **(Figura 19)**. La introducción del acetilo hace que se pierda la carga positiva que existía en la cadena lateral de la lisina, de modo que dejan de establecerse interacciones electrostáticas con el DNA. El resultado final es la desorganización del nucleosoma, fenómeno que está relacionado con la activación génica. Ello se debe a que, en definitiva, se pasa de una forma muy compacta o condensada de la cromatina (heterocromatina) a otra forma más relajada o abierta (eucromatina) **(Figura 20)**. Esto es lo que se conoce como control pretranscripcional de la expresión génica.

La heterocromatina está relacionada con la represión génica dado que, al estar muy empaquetada, impide el acceso y unión de los TF a sus secuencias específicas en el DNA. La eucromatina, en cambio, se relaciona con la activación génica pues al ser más abierta se permite el acceso de los TF a sus sitios de unión.

Algunos TF con actividad histona acetil transferasa (HAT) son los cofactores CBP y p300 (*ver apartado 6*), y algunos de los factores asociados

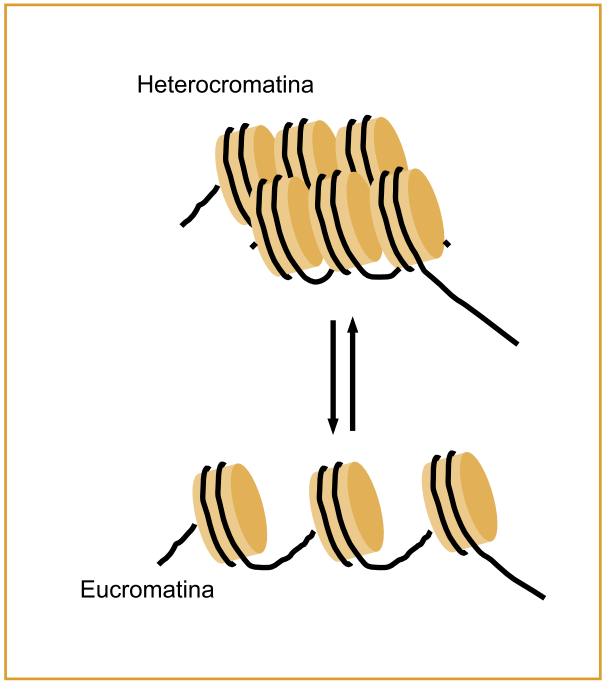


Figura 20. *Transformación de la heterocromatina en eucromatina.*

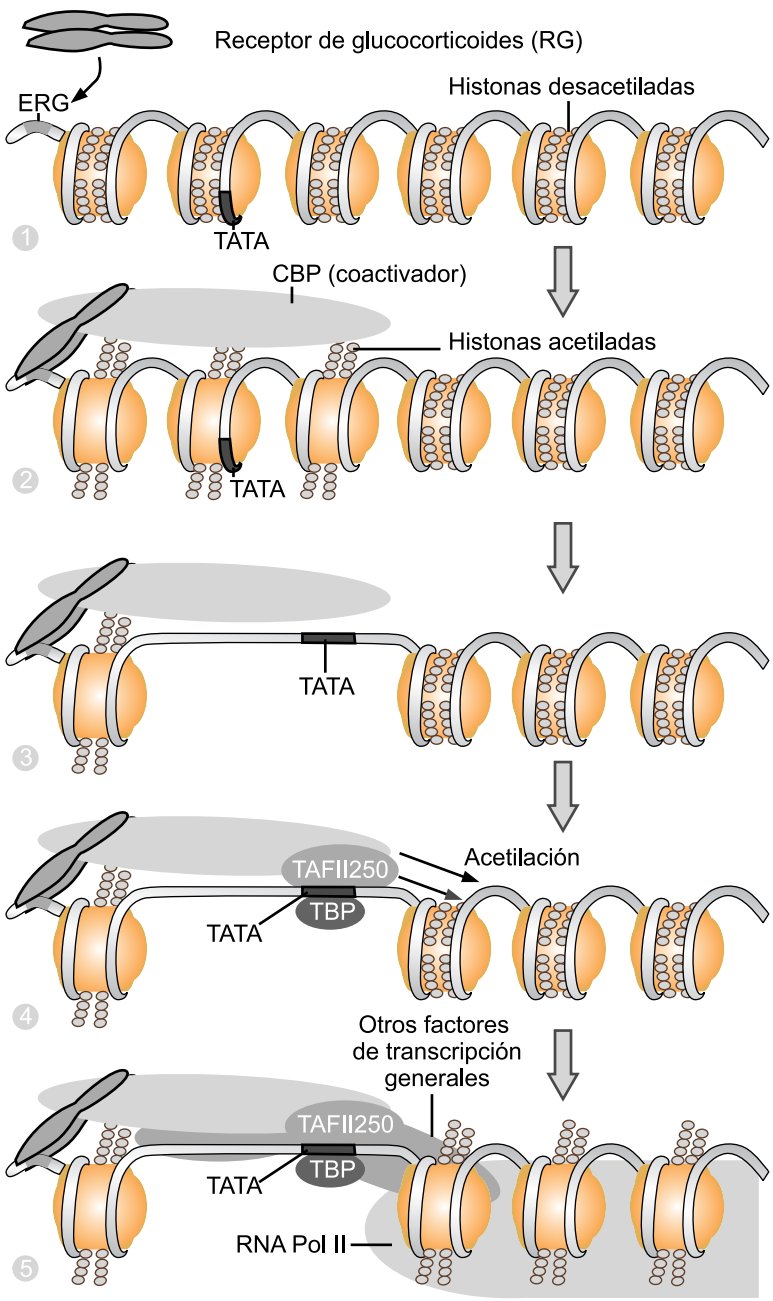


Figura 21. *Secuencia de eventos mediante los cuales la transcripción de un gen pasa de estar reprimida a activada. ERG: elemento de respuesta a glucocorticoides; TATA: caja TATA; CBP: un coactivador; TBP: proteína de unión a la caja TATA; TAFII250: uno de los factores asociados a TBP; RNA Pol II: RNA polimerasa II. Fuente (con permiso de John Wiley & Sons, Inc.): Wiley GK. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. New York, 2001.*

a la proteína TBP (TAF) mencionados en el apartado 4.1. Es interesante destacar que los TF con actividad HAT no sólo puede acetilar histonas sino también otros TF, lo cual suele volver activos a estos últimos (*ver apartado 4.2*).

Una posible secuencia de eventos que explicaría cómo se pasa de un gen en estado reprimido a activado se resume en la **Figura 21**. Los TF inducibles, como el receptor de glucocorticoides (RG), representado en la **Figura 21**, pueden unirse a sus elementos de respuesta (elemento de respuesta a glucocorticoides o ERG, en este caso) aunque el DNA esté empaquetado en forma de nucleosomas. Una vez unidos al DNA, los TF inducibles reclutan coactivadores. RG recluta, entre otros, al coactivador CBP. Este coactivador posee actividad histona acetil transferasa, de forma que se desorganizan los nucleosomas en una zona localizada. El resultado es que las secuencias de unión de TF generales que antes estaban ocultas quedan entonces accesibles (la caja TATA) **(Figura 21)**. Ello permite la unión del TF general, en este caso TFIID (*ver apartado 4.1*). Algunos de los TAF que forman parte de este factor general también tienen actividad histona acetil transferasa, con lo que el proceso de desorganización de la cromatina continúa corriente abajo. En definitiva, se permite que la RNA Pol II encuentre el sitio de inicio de la transcripción.

La acetilación no es la única modificación covalente que pueden sufrir las histonas. Hasta

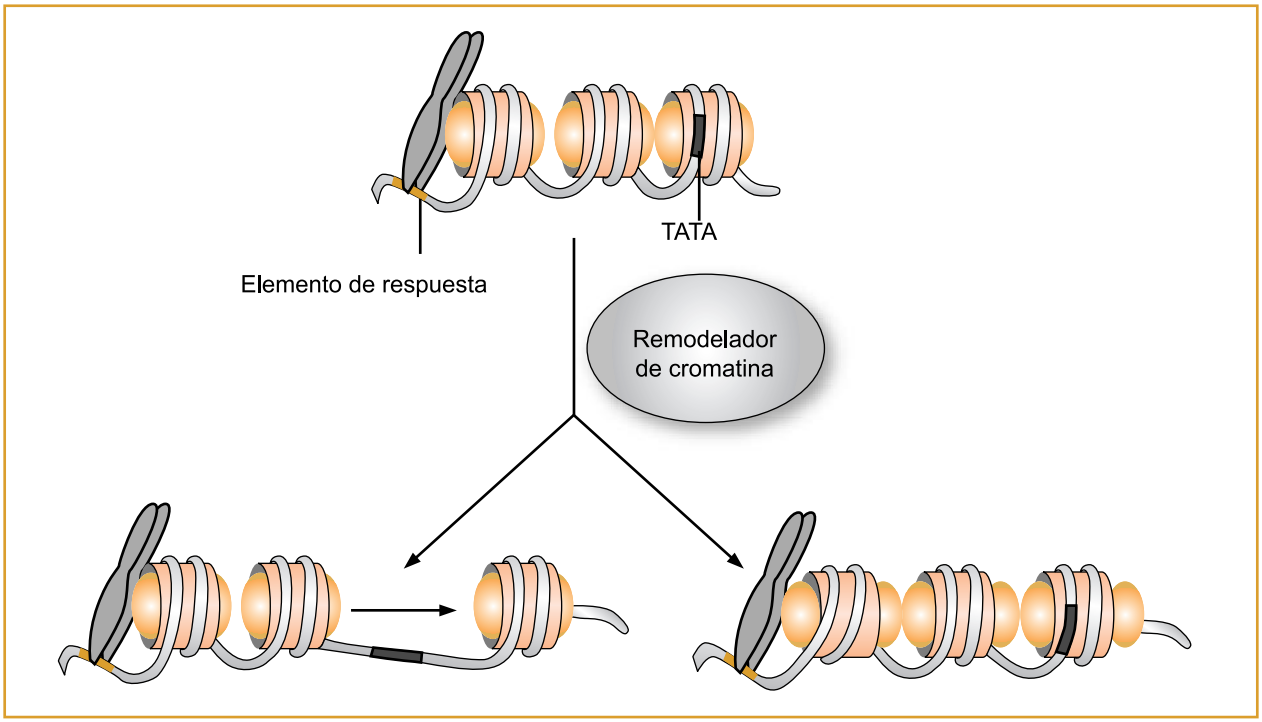


Figura 22. *Remodelado de la cromatina mediante gasto de ATP. TATA: caja TATA. Fuente (con permiso de John Wiley & Sons, Inc.): Wiley GK. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. New York, 2001.*

la fecha se sabe que las lisinas, además de acetilarse, también pueden metilarse y ser marcadas con ubiquitina u otras proteínas de estructura muy parecida (como la proteína SUMO, del inglés ***S****mall* ***U****biquitin-related* ***MO****difier*); las argininas pueden metilarse; las serinas y treoninas, fosforilarse; y los glutamatos, ADP-ribosilarse.

Todas estas modificaciones, en realidad, se han descrito tanto en genes cuya transcripción está reprimida como activada, de modo que se piensa que debe existir un **"código de histonas"**, el cual aumentaría y complicaría las posibilidades del código genético (las cuatro letras o bases del DNA). Este código sería leído por la maquinaria transcripcional y, así, el gen sería activado o silenciado.

En definitiva, ello implica que el proceso de regulación de la transcripción es bastante más complejo de lo que se conoce en la actualidad.

Además, estas modificaciones covalentes crean una superficie donde se unen otras proteínas reguladoras, las cuales pueden reclutar, a su vez, otras y formar complejos multiproteicos. Así, se han descrito proteínas que poseen un bromodominio, el cual se une a lisinas acetiladas. Otras proteínas poseen un cromodominio, el cual se une a lisinas metiladas.

7.2. Remodelado de la cromatina por gasto de ATP

Este remodelado de la cromatina lo llevan a cabo complejos multiproteicos que poseen actividad ATPasa. En la actualidad, se piensa que la energía de hidrólisis del ATP se invierte en producir bien un deslizamiento lateral del octámero de histonas, o bien un cambio en la conformación del octámero **(Figura 22).** En cualquiera de los dos casos se alcanza el mismo resultado y es que las secuencias reconocidas por los TF quedan accesibles a estos últimos.

8. Mecanismos de acción de los TF represores

Los represores pueden actuar también a través de mecanismos directos e indirectos. El mecanis-

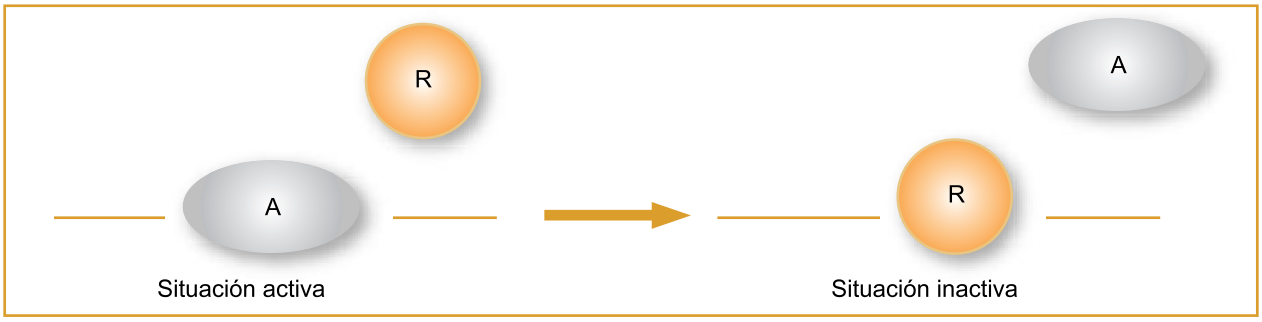


Figura 23. *Mecanismo de acción de los TF inhibidores: competencia por el sitio de unión del activador. A: TF activador; R: TF represor.*

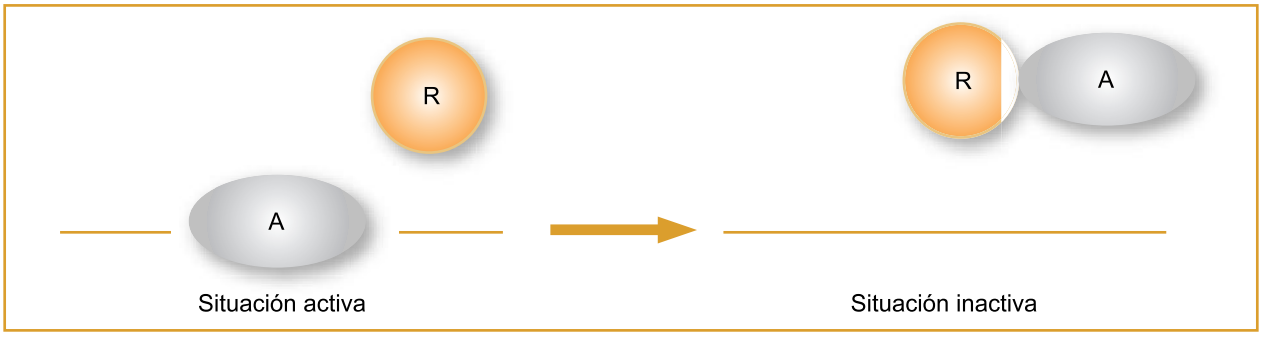


Figura 24. *Mecanismo de acción de los TF inhibidores: secuestro del activador. A: TF activador; R: TF represor.*

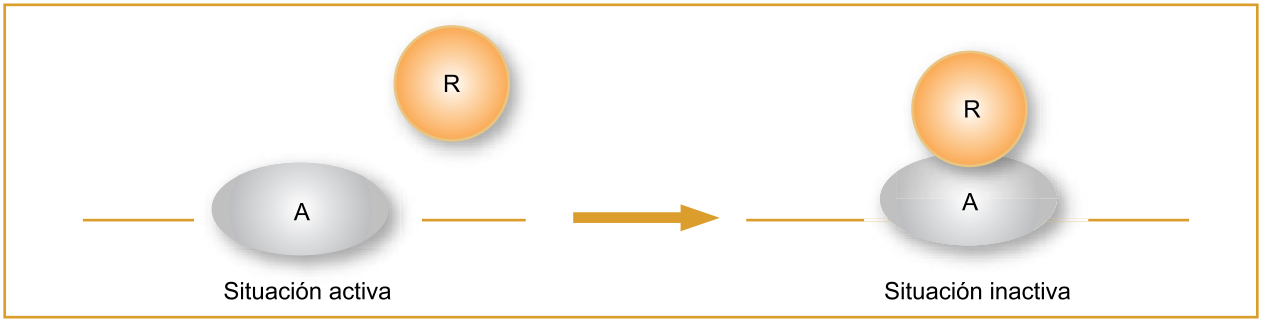


Figura 25. *Mecanismo de acción de los TF inhibidores: bloqueo del activador. A: TF activador; R: TF* represor.

mo indirecto consiste en que el represor posea algún dominio semejante al transactivador de los TF activadores pero con efecto opuesto, es decir, un dominio transrepresor.

Existe, además, una gama variada de mecanismos indirectos:

• Competencia por el sitio de unión en el DNA **(Figura 23)**. Un TF represor y un TF activador pueden tener un sitio común de unión en el DNA, de tal forma que entre ambos se establece una competencia para unirse al sitio. Si en esa competencia gana el represor, el activador no podrá ejercer su actividad.

• Secuestro del activador **(Figura 24)**. Algunos TF represores pueden interaccionar con factores activadores impidiendo la unión y, por tanto, el efecto de estos últimos a sus secuencias específicas en el DNA.

• Bloqueo del dominio transactivador **(Figura 25)**. Algunos TF represores pueden interaccionar con un TF activador de forma que enmascaran el dominio transactivador de este último.

• Degradación proteolítica **(Figura 26)**. Otros TF represores se unen a TF activadores de forma que éste queda marcado para su degradación proteolítica. Aquí, pueden distinguirse dos modalidades: que la unión del represor marque el activador

para ser degradado por proteasas, o que el propio represor sea el que posea la actividad proteasa.

• Remodelado de la cromatina. También los TF represores pueden remodelar la cromatina, en este caso con un efecto contrario al descrito para los activadores.

Estos TF represores son proteínas con actividad histona desacetilasa, la cual elimina el grupo acetilo que introdujo un TF activador con actividad histona acetil transferasa. La eliminación del acetilo tiene como consecuencia que se recupere la carga positiva en la cadena lateral de las lisinas de los nucleosomas y, en definitiva, que se recuperen interacciones electrostáticas entre el DNA y el octámero de histonas.

Por consiguiente, se pasaría de la forma abierta de la cromatina relacionada con la activación génica (eucromatina), a la forma compacta de la cromatina relacionada con la represión génica (heterocromatina) **(Figura 20)**.

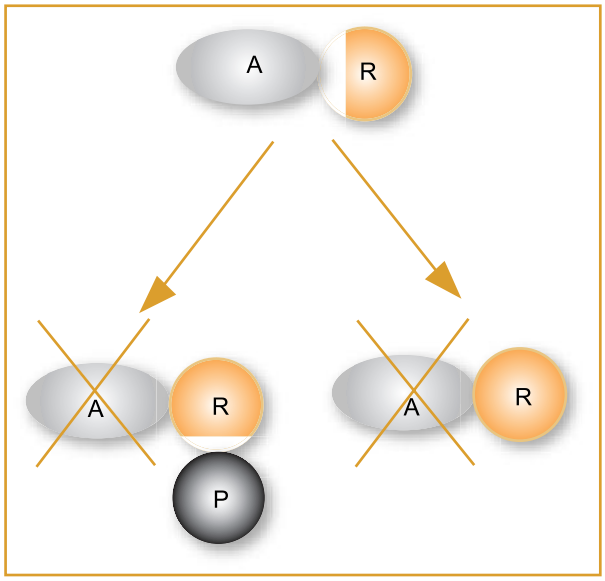


Figura 26. *Mecanismo de acción de los TF inhibidores: degradación proteolítica. A: TF activador; R: TF represor; P: proteasa.*

9. Regulación de la transcripción de genes de clase II con otras modalidades de promotor

No todos los genes de clase II tienen elementos basales constituidos por la caja TATA y la secuencia iniciadora (TATA+ Inr+), sino que existen todas las gamas: TATA+ Inr-, TATA- Inr+, y TATA- Inr-.

En la transcripción de los genes con elemento basal TATA- Inr+ intervienen unos factores de transcripción denominados genéricamente IBP (proteínas de unión a la secuencia Inr). Por lo demás, el proceso es similar al descrito para los genes TATA+ Inr+ (en la transcripción de los genes TATA+ Inr+ también participan las IBP).

Se desconoce cómo tiene lugar el inicio de la transcripción en los genes TATA- Inr-.

10. Regulación de la transcripción de los genes de clases I y III

La gama de genes, y por consiguiente de promotores, de clases I y III es mucho menor que la de genes de clase II. Los promotores de clase I, al igual que los de clase II, se sitúan corriente arriba del punto de inicio de la transcripción. En cambio, los promotores de clase III se localizan corriente abajo (hacia el extremo 3') del punto de inicio, esto es, dentro de la parte estructural; se denominan regiones internas de control.

El proceso de regulación de estos genes es, en esencia, similar al de los de clase II. La principal diferencia estriba en que los factores de transcripción que participan son distintos. Otra diferencia es que los promotores de clases I y III se caracterizan por que no contienen caja TATA. Aun así, la proteína TBP participa en la formación del complejo de inicio en estas clases de genes. TBP en este caso no se une al DNA sino a otros factores.

11. Otros puntos de regulación de la expresión génica

Como se comentó en la Introducción, la síntesis de una proteína no sólo depende de la transcripción del gen que la codifica sino también de las diversas formas en que el transcrito primario madure. A partir de un mRNA inma-

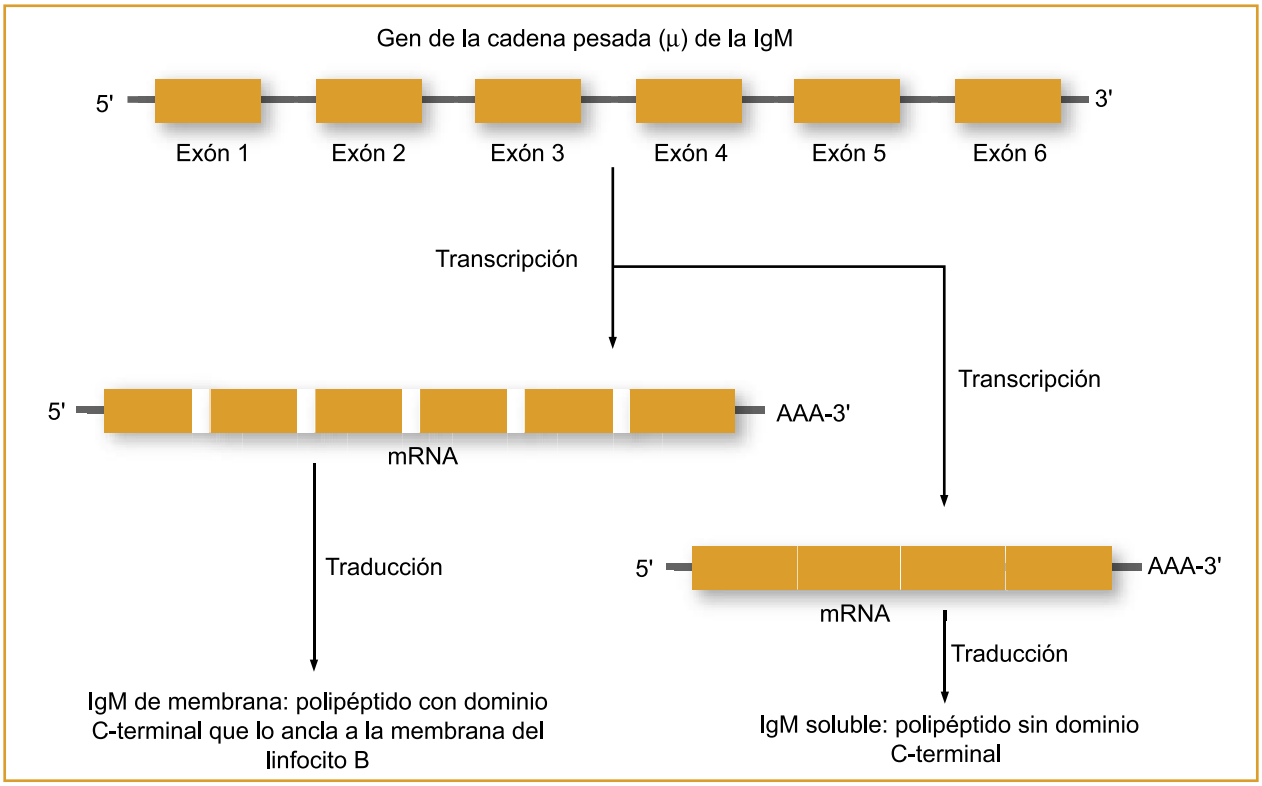


Figura 27. *Ayuste alternativo del gen que codifica las cadenas pesadas μ de la inmunoglobulina M (IgM).*

duro se pueden sintetizar distintas proteínas, dependiendo del modo en que aquél sea procesado. A continuación, se detallan ejemplos de regulación postranscripcional, pretraduccional, traduccional, postraduccional y de la degradación de proteínas.

11.1. Control postranscripcional de la expresión génica

11.1.1. Eliminación diferencial de intrones

Como se mencionó con anterioridad, los genes de clase II son aquellos que se transcriben en un mRNA. El resultado de la transcripción es un mRNA inmaduro, también denominado pre-mRNA o transcrito primario, el cual se localiza en el núcleo de la célula. Para que pueda tener lugar el proceso de síntesis proteica a partir del mRNA (traducción), éste deberá viajar al citoplasma y esto no ocurrirá hasta que el transcrito primario madure.

La maduración del transcrito primario consiste en la adición de una caperuza de guanina a su extremo 5', la adición de una cola de poli-adeninas a su extremo 3', y en la eliminación de los intrones (secuencias que no codifican aminoácidos, o sea, sin mensaje genético). Tras ser eliminados los intrones, los exones (secuencias codificantes) deben ser reconectados entre sí. A este proceso de corte de los intrones y posterior empalme de los exones se le denomina ayuste (*splicing*, en inglés), y a la maquinaria encargada de llevarlo a cabo, ayustosoma o espliceosoma.

Además del ayuste descrito existe una variante llamada ayuste alternativo. Consiste en que algunos exones del transcrito primario son considerados intrones y, como tales, eliminados. Ello se debe a que el reconocimiento de los límites del exón puede producirse diferencialmente por parte del espliceosoma. El resultado es que se pueden formar varios mRNA maduros a partir del mismo transcrito primario y, consecuentemente, varias proteínas.

Como ejemplo se puede citar la síntesis de las inmunoglobulinas M (IgM) **(Figura 27)**. Los

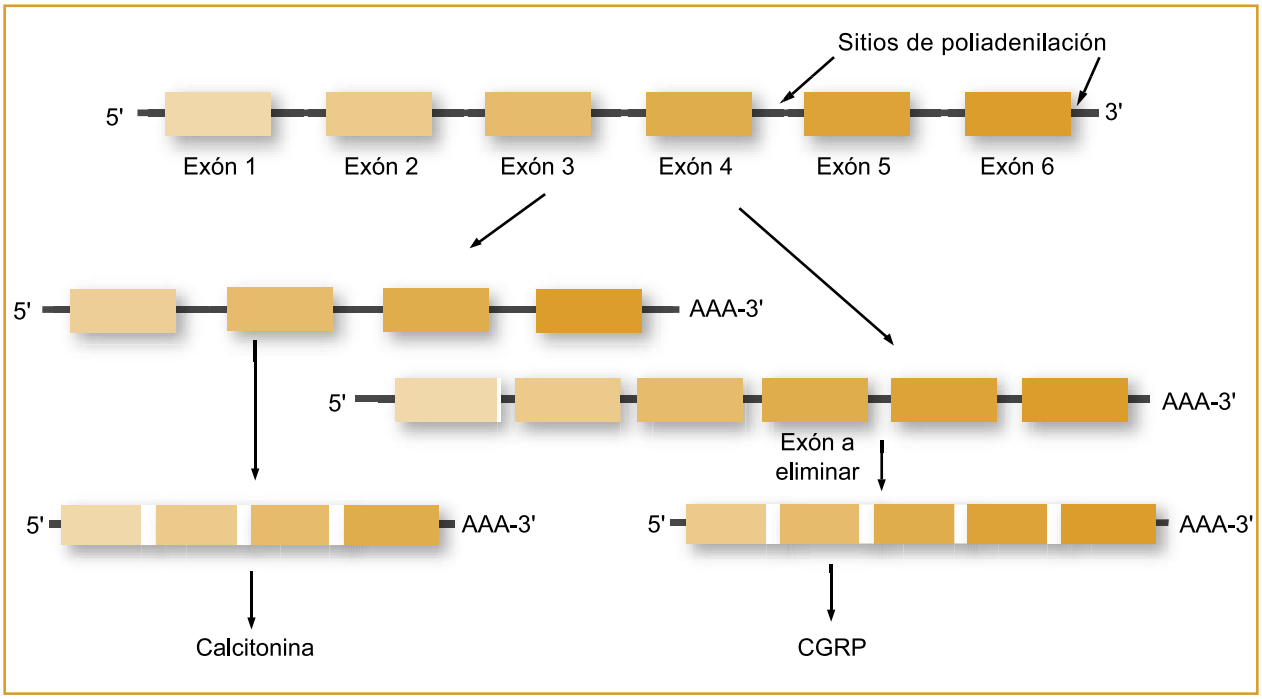


Figura 28. *Elección del sitio de poliadenilación del gen de la calcitonina/CGRP de rata. CGRP: neuropéptido relacionado con el gen de la calcitonina.*

linfocitos B producen dos variantes de IgM: las que quedan ancladas a la membrana plasmática del linfocito B, y aquellas en las que la célula secreta a la sangre. La razón de que existan estas dos variantes se debe a un fenómeno de ayuste alternativo. Así, el gen que codifica las cadenas pesadas μ de las IgM contiene seis exones. Si los seis exones son considerados como tales sólo se eliminarán los intrones. Esto originará una variante larga del mRNA maduro, el cual dará lugar a una cadena μ larga, que contiene un dominio que ancla la IgM a la membrana del linfocito B. Pero si los exones 5 y 6 son eliminados como intrones, se origina una variante corta del mRNA. Éste dará lugar a una cadena μ también más corta que carece del dominio de anclaje a la membrana plasmática y, por tanto, la IgM es secretada.

11.1.2. Elección del sitio de poliadenilación

Un gen puede contener distintas señales de poliadenilación, de modo que se pueden originar a partir de él varios mRNA diferentes. En la **Figura 28** se esquematiza la síntesis de la calcitonina y del neuropéptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). Según la señal de poliadenilación que se elija se obtendrán dos variantes de la proteína. En el tiroides se elige la primera señal, mientras que en el cerebro se elige la segunda. Ello da lugar a la síntesis, respectivamente, de la variante corta y larga del mRNA maduro. En el tiroides se sintetizará la calcitonina, encargada de inhibir la movilización de calcio de los huesos. En cambio, en el cerebro se producirá CGRP, que está implicado en la percepción del gusto.

11.1.3. Edición del mRNA

Algunos mRNA difieren de las secuencias de su DNA molde por haber sufrido modificaciones postranscripcionales, como sustituciones, adiciones, deleciones e inversiones de bases. A estas modificaciones se las conoce con el término de edición del mRNA.

Como ejemplo puede mencionarse la síntesis de las apoproteínas apo B-48 y apo B-100. Ambas apoproteínas proceden del mismo gen, pero la primera se expresa en el intestino delgado y forma parte de los quilomicrones; la segunda se expresa en el hígado y forma parte de las lipoproteínas de

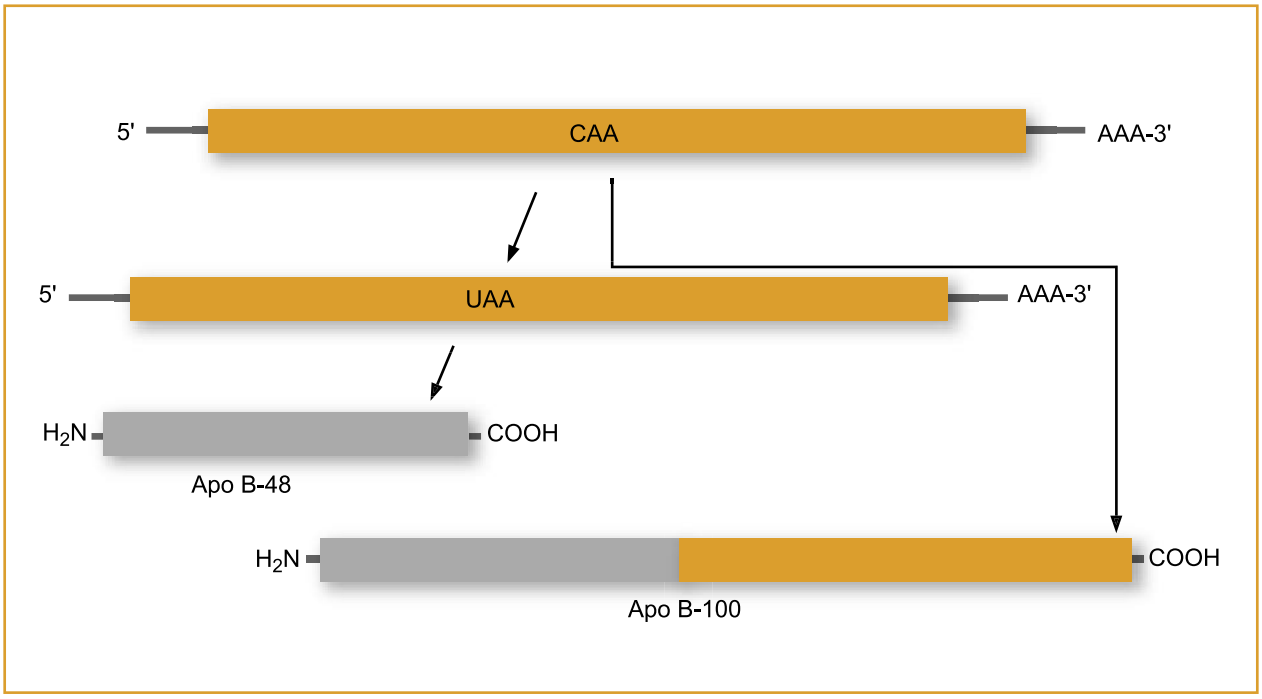


Figura 29. *Síntesis de las apoproteínas B-48 y B-100 mediante la edición de su mRNA.*

muy baja densidad (VLDL). Esto se debe a un fenómeno de edición del mRNA **(Figura 29)**. En el hígado se sintetiza una variante larga del mRNA, la cual se traduce a una proteína con un peso molecular de 100 KDa, la apo B-100. En el intestino delgado tiene lugar el fenómeno de edición: la citosina de un codón CAA del mRNA es desaminada a uracilo, lo que origina un codón UAA de parada de la traducción. En definitiva, en este último caso se forma otra proteína, la apo B-48, con un peso molecular de aproximadamente la mitad del de la apo B-100.

11.2. Control pretraduccional de la expresión génica: estabilidad del mRNA

El mRNA posee una vida media que puede oscilar de minutos a días. En general, aquellas proteínas con funciones reguladoras son inestables, sus mRNA tienen una vida media corta (30 min). La estabilidad del mRNA depende, entre otros factores, de la caperuza de guanina en su extremo 5' y de la cola de poli-A de su extremo 3', pues ambas protegen de la acción de nucleasas.

Un ejemplo bien conocido de este tipo de control es el del receptor de la transferrina. El hierro es un elemento que viaja por la sangre unido a la proteína transferrina. En la membrana plasmática de las células existe un receptor que reconoce esta proteína y que, por tanto, se encarga de la entrada de hierro. La expresión del receptor de transferrina varía de acuerdo con las necesidades de hierro que tengan las células: aumenta cuando escasea el hierro y disminuye cuando abunda. La región 3' no traducible del mRNA que codifica el receptor de transferrina forma cinco estructuras a manera de horquillas que constituyen un "elemento de respuesta a hierro" (IRE) **(Figura 30)**. A este IRE se une una proteína IRE-BP que posee dos grupos sulfhidrilo (-SH). En una situación en la que escasee el hierro, la proteína IRE-BP podrá unirse a la región 3' no traducible del mRNA, protegiéndolo de la acción de endonucleasas. Esto hace que la vida media, y por lo tanto la concentración, del mRNA aumente. En definitiva, se expresa más receptor, se capta más transferrina y la célula se asegura de captar el poco hierro disponible. En la situación contraria, abundancia de hierro, los grupos -SH de IRE-BP se oxidan para formar un puente disulfuro. En estas condiciones, IRE-BP

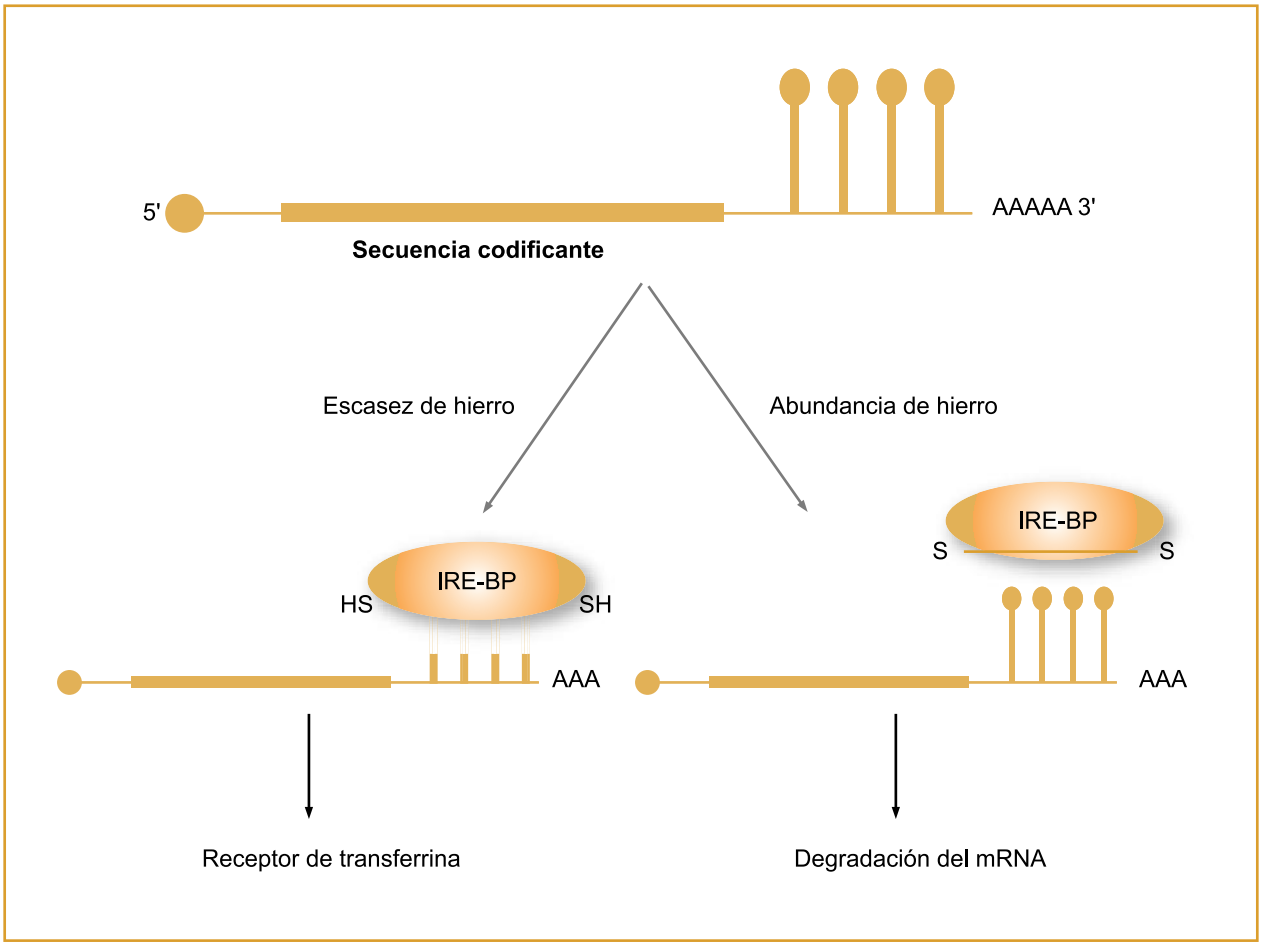


Figura 30. *Estructura del mRNA del receptor de transferrina. La síntesis del receptor de transferrina varía según la disponibilidad de hierro en el organismo. IRE-BP: proteína de unión al elemento de respuesta al hierro.*

no puede unirse al IRE y el mRNA es degradado **(Figura 30)**.

11.3. Control traduccional de la expresión génica: control por bloqueo

La alta tasa de transcripción de un gen o la elevada estabilidad del mRNA no aseguran que la proteína codificada vaya a sintetizarse en grandes cantidades. La velocidad con que se inicia la traducción en eucariotas se modula por diferentes moléculas reguladoras que pueden actuar por interacción con los mRNA, con los ribosomas o modificando a los factores de iniciación. Un ejemplo de control de la traducción en eucariotas es el de la síntesis de ferritina.

El hierro se almacena en la célula unido a la proteína ferritina. Las concentraciones intracelulares de hierro y ferritina están muy relacionadas. La región 5' no traducible del mRNA de la ferritina contiene un IRE, en este caso formado por una sola horquilla **(Figura 31)**. En una situación de ausencia de hierro, al IRE se une la proteína IRE-BP, lo cual bloquea al mRNA de forma que no puede ser traducido; en consecuencia, no habrá síntesis de ferritina. En la situación contraria de abundancia de hierro, los grupos -SH de IRE-BP están en forma de puente disulfuro, de modo que no se podrá unir al IRE y el mRNA sí será traducido; habrá síntesis de ferritina.

En este apartado también se incluye la regulación de la traducción por fenómenos de fosforilación-desfosforilación de factores de iniciación. Dos ejemplos de esta modalidad son el control

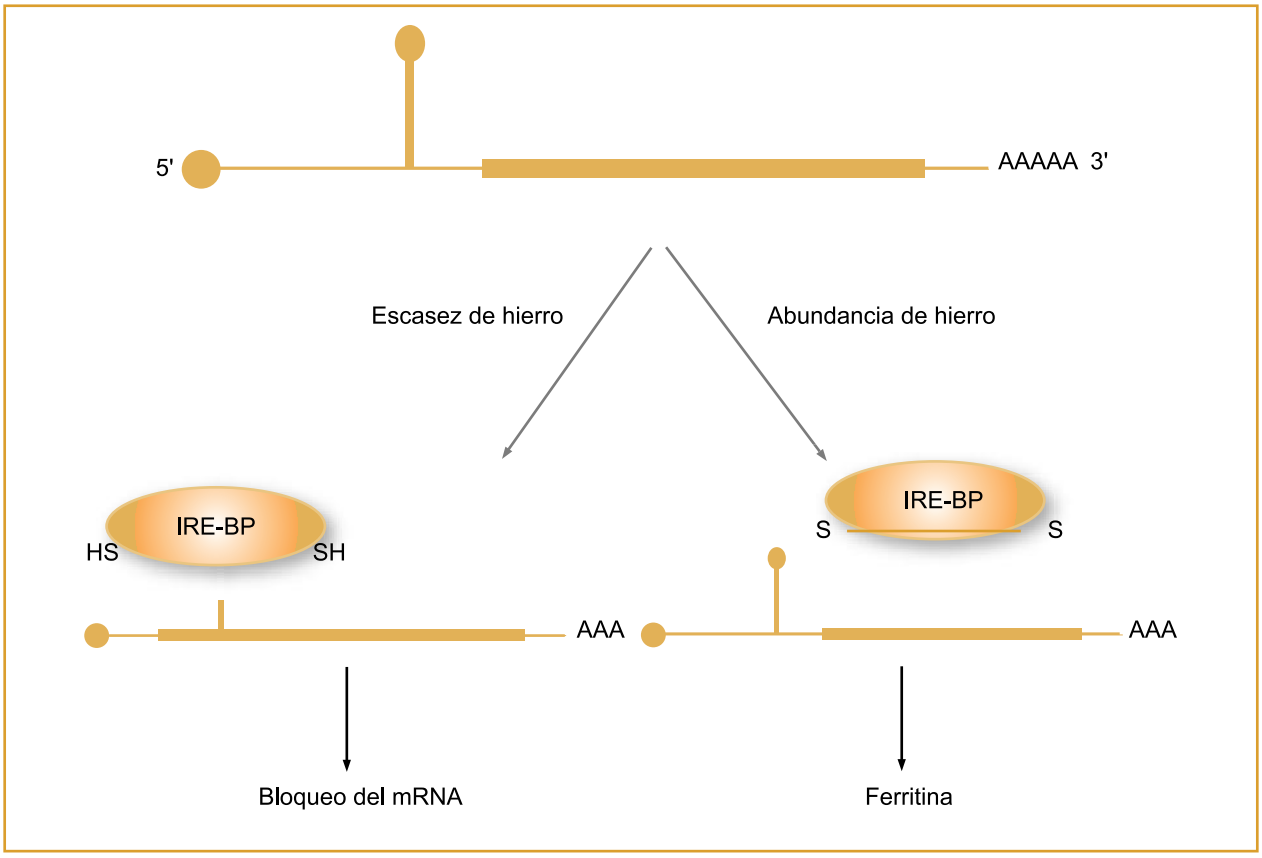


Figura 31. *Estructura del mRNA de la ferritina. La síntesis de la ferritina varía según la disponibilidad de hierro en la célula. IRE-BP: proteína de unión al elemento de respuesta al hierro.*

ejercido por el grupo hemo sobre la síntesis de las subunidades de la hemoglobina y la acción antiviral de los interferones.

11.4. Control postraduccional

La conformación activa y la localización celular de una proteína se deben a las modificaciones que ésta sufre después de haber sido sintetizada. Existen proteasas específicas de tejido que actúan sobre una única proteína precursora cortando enlaces en diferentes sitios, de forma que se obtienen varios polipéptidos con distintas actividades biológicas.

11.5. Control de la degradación de proteínas

Al igual que los mRNA, las proteínas tienen una vida media. La proteólisis o degradación de las proteínas celulares puede ocurrir en los lisosomas (orgánulos que contienen proteasas inespecíficas llamadas catepsinas) y en el proteasoma 26S (un complejo de proteasas dependientes de la hidrólisis de ATP). Ambas modalidades de proteólisis están reguladas. De manera general, la proteólisis aumenta en situaciones como el envejecimiento, el ayuno, el ejercicio, la desnutrición, la acidosis, el estrés y la regresión uterina que sigue al parto (*ver Capítulo 1.6*).

12. Resumen

- En los organismos eucariotas, todos los procesos que componen la ruta de expresión génica (síntesis, maduración y degradación del mRNA; síntesis, maduración, degradación, direccionamiento y transporte de la proteína) se encuentran sujetos a regulación. De todos estos procesos, el principal punto de control es la transcripción.

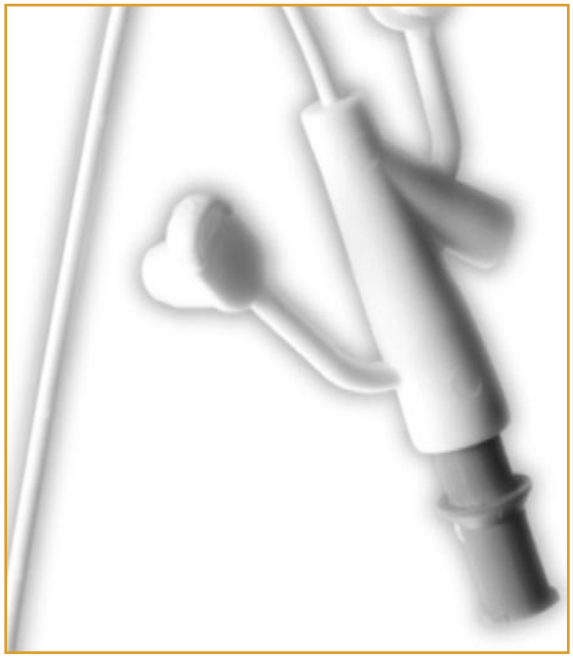
- La transcripción en eucariotas se controla mediante la intervención de secuencias de DNA y proteínas, ambas reguladoras. El conjunto de todas las secuencias reguladoras de un gen (basales, proximales y distales) se denomina promotor. Éste es la parte no codificante del gen y se encarga de regular el inicio de la transcripción del mismo. En eucariotas, la RNA Pol II no es capaz de reconocer el sitio de inicio de la transcripción a menos que, previamente, se hayan unido al promotor unas proteínas que reciben el nombre de factores de transcripción, y que pueden definirse como todas aquellas proteínas necesarias para el inicio de la transcripción pero que no forman parte de la RNA Pol II. El número y tipo de factores de transcripción que se une a cada promotor es variable.

- Los factores de transcripción se clasifican en generales, proximales y distales según el tipo de secuencia reguladora a la que se unen en el promotor. Aquellos genes cuya transcripción está controlada únicamente por factores generales y proximales se denominan constitutivos; son los genes que se expresan en todas las células de un organismo y, asimismo, de forma constante a lo largo de toda la vida de la célula. Se trata de genes cuyos productos son indispensables para la célula.

- Los factores distales controlan la transcripción de los genes inducibles, esto es, genes que se expresan muy activamente en unas ocasiones y no se expresan en absoluto en otras. Ello se debe a que estos factores no son sintetizados por todos los tipos celulares del organismo ni de forma constante a lo largo del ciclo celular, sino que son producidos o activados en respuesta a las señales que le llegan a la célula (hormonas, fármacos y nutrientes, entre otras). En definitiva, los factores distales son los responsables de la especificidad de tejido.

- En general, los factores de transcripción suelen poseer diversos dominios. Es frecuente que posean un dominio que les permite formar dímeros, otro que les permite unirse al DNA, y otro que les permite activar la transcripción génica. El dominio de unión al DNA en la mayoría de los casos es una hélice-giro-hélice, un homeodominio, una hélice-bucle hélice, una cremallera de leucina o dedos de Zn. El dominio transactivador puede ser acídico, rico en prolina o rico en glutamina.

- Los factores de transcripción pueden clasificarse en activadores o represores según aumenten o disminuyan la velocidad de inicio del proceso. En eucariotas lo más frecuente son los activadores, si bien cada vez se descubren más represores. Tanto unos como otros pueden ejercer su actividad mediante una gama muy variada de mecanismos directos e indirectos.



13. Bibliografía

Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molecular Biology of the Cell, 4ª ed. Garland Publishing. New York, 2002.
Este libro incluye, en nuestra opinión, uno de los mejores y más completos CD-ROM interactivos, que ilustra con animaciones numerosos aspectos de Biología Celular, Bioquímica y Biología Molecular; entre otros, el control de la expresión génica.

Brivanlou AH, Darnell JE Jr. Signal transduction and the control of gene expression. Science 2002; 295: 813-8.
Artículo de revisión en el que los autores proponen una clasificación de los factores de transcripción atendiendo a criterios funcionales.

Iizuka M, Smith MM. Functional consequences of histone modifications. Curr Opin Gene Devel 2003; 13: 154-60.
Revisión reciente sobre el código de histonas y todas las modificaciones covalentes que pueden sufrir estas proteínas. El lector se puede dar cuenta de que ésta es un área tremendamente complicada en la que se está investigando de forma muy activa en los últimos años.

Latchman DS. Eukaryotic Transcription Factors, 4ª ed. Elsevier Academic Press. London, 2004.
Reciente edición de un libro muy completo dedicado específicamente a los factores de transcripción eucariotas.

Lewin B. Genes, VIII. Prentice Hall. New York, 2003.
Uno de los mejores libros de Biología Molecular que va ya por la octava edición. Para el presente Capítulo de este Tratado de Nutrición son especialmente útiles los capítulos 9 ("Transcripción"), 20 ("Iniciación de la transcripción") y 21 ("Regulación de la transcripción").

Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell JE. Biología Celular y Molecular, 4ª ed. Editorial Médica Panamericana. Madrid, 2002.
Se trata de otro libro de texto muy completo. Incluye un CD-ROM explicativo.

Luque J, Herráez A. Texto ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética. Conceptos, técnicas y aplicaciones en Ciencias de la Salud. Elsevier Health Sciences Iberoamérica. Madrid, 2001.

Magnífico libro de texto de Biología Molecular editado en 2001 pero del que se ha hecho una segunda reimpresión en noviembre de 2002. Incluye un CD-ROM con 79 imágenes del libro. Son especialmente útiles los capítulos 19 ("Transcripción"), 20 ("Control de la expresión génica: pretranscripcional y transcripcional"), 21 ("Maduración del RNA o procesamiento postranscripcional"), 23 ("Síntesis de proteínas: Traducción") y 24 ("Modificaciones postraduccionales").

Medina JM, Sánchez de Medina F, Vargas A. Bioquímica, 2ª ed. Síntesis. Madrid, 2003.
La tercera parte de este libro está dedicada a la Biología Molecular y cubre de forma más sencilla que los textos anteriores todos los aspectos comentados en este Capítulo.

Spector DL. The dynamics of chromosome organization and gene regulation. Ann Rev Biochem 2003; 72: 573-608.
En este artículo se revisa el conocimiento actual sobre la organización de los cromosomas dentro del núcleo, se compara la situación de los genes inactivos con la de los activos y se discuten estudios sobre la dinámica de los cromosomas y su relación con la actividad de los genes y el ciclo celular.

14. Enlaces web

- www.biochem.ucl.ac.uk/bsm/prot_dna/prot_dna_cover.html
- www.gene-regulation.com/pub/databases/transfac/cl.html
- www.rtc.riken.go.jp/jouhou/image/gallery.html

1.8. Fisiología de la digestión

Emilio Martínez de Victoria Muñoz ■ Mariano Mañas Almendros ■
María Dolores Yago Torregrosa

Capítulo 1.8.

Fisiología de la digestión

1. Introducción

2. Definición y organización anatómica
2.1. Estructura de la pared del tracto digestivo

3. Regulación de las funciones del tracto digestivo
3.1. Regulación nerviosa
3.1.1. Inervación del tracto gastrointestinal
3.1.2. Regulación nerviosa de las funciones digestivas
3.2. Regulación humoral
3.3. Regulación neurohumoral de las funciones digestivas

4. Motilidad del tracto digestivo
4.1. Masticación
4.2. Deglución
4.2.1. Motilidad del esófago
4.3. Motilidad gástrica
4.3.1. Llenado gástrico
4.3.2. Vaciamiento gástrico
4.3.3. Regulación del vaciamiento gástrico
4.4. Vómito
4.5. Motilidad del intestino delgado
4.5.1. Motilidad posprandial
4.5.2. Motilidad interdigestiva (ayunas)
4.6. Motilidad del intestino grueso. Defecación

5. Secreciones digestivas
5.1. Secreción salival
5.2. Secreciones gástricas
5.2.1. Secreción de ácido
5.2.2. Secreción de pepsinógenos
5.2.3. Secreción de mucus
5.3. Secreción pancreática
5.3.1. Mecanismos de secreción de los componentes del jugo pancreático
5.3.2. Regulación de la secreción del jugo pancreático
5.4. Secreción biliar
5.4.1. Composición de la bilis
5.4.2. Mecanismos de secreción de la bilis
5.4.3. Regulación de la secreción biliar
5.4.4. Respuesta biliar a la comida
5.5. Secreciones intestinales

6. Digestión y absorción
6.1. Aspectos anátomo-funcionales
6.2. Mecanismos generales de la digestión y absorción
6.3. Digestión y absorción de hidratos de carbono
6.3.1. Digestión
6.3.2. Absorción
6.4. Digestión y absorción de las proteínas
6.4.1. Digestión
6.4.2. Absorción
6.5. Digestión y absorción de los lípidos
6.5.1. Digestión
6.5.2. Absorción
6.6. Balance de fluidos en el tracto gastrointestinal

7. Resumen

8. Bibliografía

9. Enlaces web

Objetivos

- Describir el papel global del sistema gastrointestinal dentro del organismo, incluidas las funciones de defensa, identificar las estructuras que lo componen y conocer los procesos de motilidad, secreción, digestión y absorción, y relacionarlos con las consecuencias de sus alteraciones.
- Identificar las distintas estructuras que forman la pared del tracto gastrointestinal y describir sus características anatomofuncionales.
- Conocer los mecanismos nerviosos y humorales que controlan las funciones gastrointestinales. Identificar el origen y el tipo de estímulos que los ponen en funcionamiento y la interrelación entre ambos mecanismos de control.
- Describir los patrones de motilidad de los distintos segmentos intestinales, identificar sus funciones, conocer los mecanismos que las controlan y correlacionar sus actuaciones en el conjunto del sistema gastrointestinal.
- Conocer las funciones secretoras de la mucosa gastrointestinal y de las glándulas anejas, describir los mecanismos secretores y explicar los mecanismos reguladores de cada una de ellas y su relación con la ingestión de alimento.
- Describir y relacionar las funciones de las distintas secreciones digestivas en el proceso global de la digestión y absorción.
- Describir las estructuras que participan y facilitan la absorción intestinal, y conocer y discutir los diferentes procesos implicados en la absorción de los distintos macronutrientes.
- Describir el balance gastrointestinal de fluidos y los procesos implicados en el mismo. Deducir las causas y consecuencias de un desequilibrio de fluidos en el tracto gastrointestinal.

1. Introducción

El sistema gastrointestinal es el encargado de preparar los alimentos ingeridos para que sus componentes, los nutrientes, puedan ser incorporados a nuestro medio interno y lleguen a todas las células para ejercer sus funciones de aporte de energía (hidratos de carbono y lípidos), estructurales (lípidos, proteínas y minerales) y reguladoras (minerales y vitaminas). El papel funcional de este sistema es imprescindible para la nutrición de un individuo. No se debe olvidar que la luz del tracto gastrointestinal forma parte del medio externo, por lo que su pared, y las estructuras que lo componen, tienen un importante papel de barrera defensiva frente a agresiones y estímulos nocivos presentes en el medio.

Para realizar su función, el sistema gastrointestinal utiliza una serie de procesos que tienen como objetivo el manipular los componentes alimentarios de forma que se transformen en compuestos que puedan ser incorporados al medio interno sin que se afecte, de forma significativa, la composición del medio interno y por tanto la homeostasis. Estos procesos son cuatro: motilidad, secreción, digestión y absorción.

La **motilidad** se encarga, por un lado, de la manipulación mecánica de los alimentos disminuyendo su tamaño (masticación y retropropulsión gástrica) y, por otro, de hacer progresar en sentido oral-aboral los alimentos o sus productos de degradación con un patrón que permita su óptimo tratamiento químico y la incorporación de los nutrientes al medio interno (deglución, vaciamiento gástrico, motilidad intestinal).

Los procesos de **secreción** se encargan de aportar sustancias (ácido y enzimas) que interviene en la preparación (degradación) de los componentes alimentarios para que puedan ser incorporados al torrente sanguíneo.

Tanto la motilidad como la secreción están reguladas por distintos mecanismos (nerviosos y hormonales), que son informados de las características del contenido luminal (acidez, osmolaridad, composición química, fuerza iónica, etc.) para ajustar estos procesos y mantener unas condiciones óptimas para la digestión y absorción.

La actuación conjunta de los procesos de motilidad y secreción permite la correcta **digestión** de los alimentos, es decir, la transformación en moléculas que pueden absorberse. En este proceso también intervienen enzimas ligadas a la membrana de células de la pared gastrointestinal.

La **absorción** de los nutrientes y fluidos completa la función digestiva. Este proceso consiste en la incorporación de los mismos al torrente circulatorio mediante distintos mecanismos de transporte localizados en las células epiteliales de la mucosa del tracto gastrointestinal.

En este Capítulo se estudiarán los mecanismos básicos de todos los procesos del sistema gastrointestinal y su regulación. En otros capítulos dedicados a cada uno de los nutrientes y al balance corporal de fluidos se profundizará en aspectos concretos de su tratamiento digestivo.

2. Definición y organización anatómica

El sistema gastrointestinal en el hombre incluye el tracto gastrointestinal (tubo digestivo o tracto digestivo) y las glándulas anejas.

El tracto digestivo comienza en la boca y termina en el ano. A lo largo de su recorrido (de unos 9-10 m) existen una serie de segmentos y estructuras diferenciadas que cumplen un papel específico en la función global de este sistema orgánico. Estas estructuras son, en sentido oral-aboral, boca, faringe, esófago, estómago, intestino delgado, que incluye tres segmentos a su vez, duodeno, yeyuno e íleon, intestino grueso que se subdivide en ciego, colon ascendente, transverso, descendente y sigmoideo, recto y ano.

Las glándulas anejas son las glándulas salivales, el páncreas y el hígado (incluyendo la vesícula biliar).

2.1. Estructura de la pared del tracto digestivo

La estructura de la pared del tubo digestivo es diferente en los distintos segmentos que lo componen, aunque existe un patrón común que se repite en toda su longitud **(Figura 1)**.

La **mucosa** es la capa más interna. Está subdividida en varias subcapas. La más interna, en contacto directo con la luz gastrointestinal, es el **epitelio**, capa simple de células epiteliales especializadas. El tipo de epitelio varía en función de la región o segmento considerado. La **lámina propia** es una capa más externa de tejido conectivo laxo con fibras de colágeno y elastina. Tiene gran cantidad de glándulas, tejido linfático y células inmunocompetentes y está profusamente vascularizada. En la cara más externa se sitúa una delgada capa de músculo liso, la ***muscularis mucosae***, con fibras circulares internas y longitudinales externas. La actividad contráctil de esta capa da lugar a los pliegues o estrías mucosales.

La capa siguiente hacia la periferia es la **submucosa**, de forma irregular y formada por tejido conectivo fibroelástico rico, al igual que la lámina propia, en fibras de colágeno y elastina. En esta capa se sitúan algunas glándulas, aunque sólo en esófago y duodeno. En ella también se incluyen vasos sanguíneos y haces de fibras nerviosas.

La siguiente capa, hacia el exterior, es la **muscular externa** responsable de las funciones motoras del tracto digestivo. Está compuesta por tres capas, las dos más internas las constituyen células musculares lisas dispuestas en sentido circular; son la **capa circular interna densa**, con células pequeñas y estrechamente empaquetadas y la **capa circular externa**. La siguiente capa es la **capa muscular longitudinal**, en la que las fibras musculares lisas se disponen en el sentido del eje mayor del tubo digestivo.

La capa más externa es la **serosa**, denominada **adventicia** cuando se sitúa en órganos retroperitoneales. Está formada por tejido conectivo y cubierta con células epiteliales escamosas de la hoja visceral del peritoneo.

Además de las estructuras citadas, la pared del tracto digestivo tiene una gran densidad de neuronas profusamente interconectadas que forman los llamados **plexos nerviosos**. Existen dos tipos, los que contienen ganglios (ganglionares) y los que no (aganglionares). Los dos más importantes son el **plexo mientérico** (de **Auerbach**), que se sitúa entre las capas de músculo liso circular externa y longitudinal, y el **plexo submucoso** (de **Meissner**). Ambos son ganglionares. También existen plexos mucosales y subserosales. El conjunto de estos plexos nerviosos constituye el sistema nervioso entérico (SNE), uno de los componentes del sistema nervioso autónomo (SNA), que se estudiará con detalle más adelante.

La irrigación de la pared del tubo digestivo proviene de la circulación esplácnica, cuyos principales vasos son las arterias celiaca, mesentérica superior e inferior.

3. Regulación de las funciones del tracto digestivo

Las funciones del tracto digestivo están coordinadas y reguladas por dos tipos de mecanismos, nerviosos y humorales. La regulación nerviosa la lleva a cabo el SNE y las otras dos divisiones del SNA (parasimpática y simpática) que inervan la pared del tracto digestivo y las estructuras efectoras situadas en ella. La regulación humoral implica la liberación de mediadores químicos por células endocrinas que llegan a las células efectoras por distintas vías.

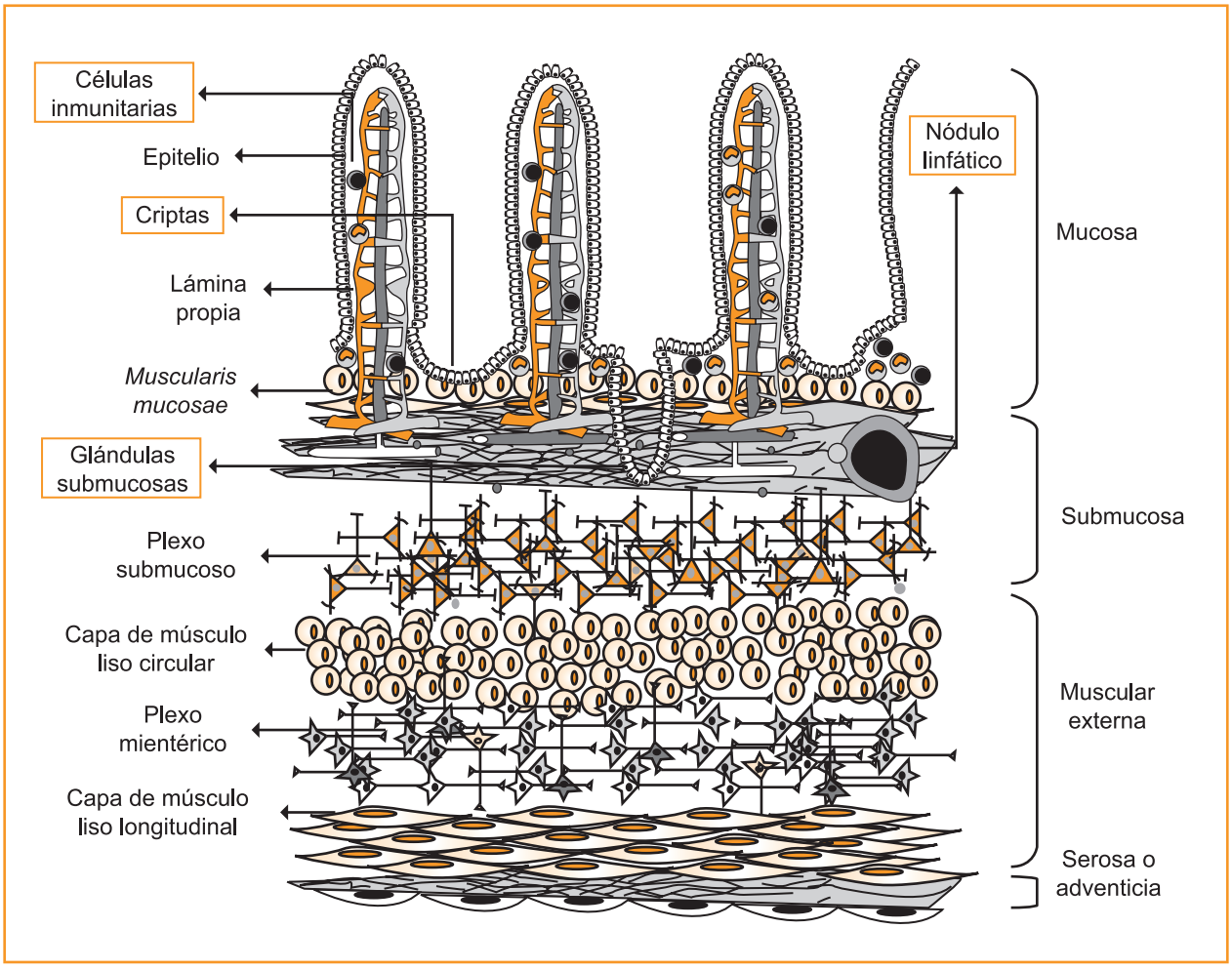


Figura 1. *Esquema de un corte longitudinal de la pared del tracto gastrointestinal. Estructura general de las distintas capas.*

En gran medida, la regulación de las funciones digestivas es intrínseca, es decir, que las estructuras reguladoras (aferencias sensoriales, centros integradores, células enteroendocrinas y células efectoras) se encuentran en el propio tubo digestivo. No obstante, existe una regulación extrínseca mediada por células endocrinas y neuronas que se sitúan fuera de las estructuras digestivas.

3.1. Regulación nerviosa

La regulación nerviosa de la actividad del tracto gastrointestinal, como antes se indicó, corre a cargo del SNE y las divisiones parasimpática y simpática del SNA. Estos mecanismos nerviosos de control intervienen, al igual que los humorales, en la regulación de las actividades motoras, secretoras, vasomotoras, inmunitarias y absortivas del tracto digestivo.

3.1.1. Inervación del tracto gastrointestinal

3.1.1.1. Inervación extrínseca

Se realiza a través de las divisiones parasimpática y simpática del SNA **(Figura 2)**.

La inervación **parasimpática** motora o eferente la constituye el nervio vago y los nervios pélvicos, cuyas fibras provienen del tallo encefálico (bulbo) y de la médula sacra, respectivamente. Las fibras preganglionares sinaptan, de forma mayoritaria, con neuronas del SNE desde el esófago al ano.

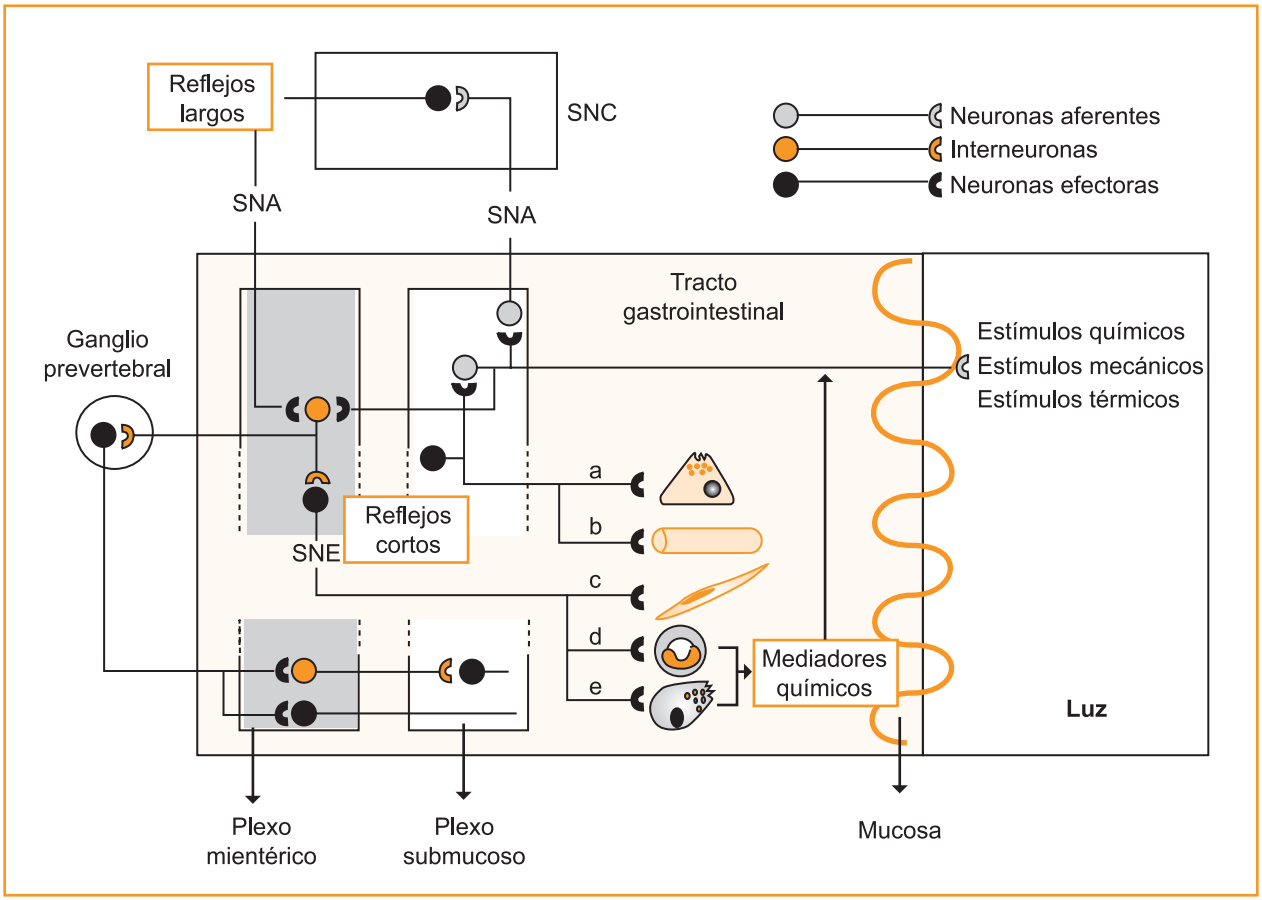


Figura 2. *Esquema de la inervación y de los mecanismos de regulación nerviosa extrínseca e intrínseca de las funciones del tracto gastrointestinal. Efectores: a: célula secretora exocrina; b: vasos sanguíneos; c: fibra muscular lisa; d: célula del sistema inmunitario; e: célula endocrina; SNA: sistema nervioso autónomo; SNC: sistema nervioso central; SNE: sistema nervioso entérico.*

Existe también una inervación aferente que procede de distintas estructuras receptoras localizadas en la pared gastrointestinal y que conduce información sensorial a los centros nerviosos de la médula y el encéfalo.

La inervación **simpática** la constituyen fibras procedentes de la médula espinal tóraco-lumbar (esplánicas) que sinaptan en los ganglios prevertebrales (celiaco, mesentérico superior e inferior) y se dirigen hacia la pared del tracto gastrointestinal, donde contactan, mayoritariamente con neuronas del SNE y algunas directamente con células efectoras (secretoras, de músculo liso, etc.). También existen aferencias simpáticas.

3.1.1.2. Inervación intrínseca

Está a cargo del SNE. Esta parte del SNA no sólo inerva estructuras de la pared gastrointestinal, sino también las glándulas anejas (salivales, páncreas y vesícula biliar) **(Figura 2)**.

El SNE está estructurado en tres grandes plexos ganglionares y varios aganglionares que se reparten por todas las capas de la pared gastrointestinal. Además del plexo mientérico (de Auerbach), situado entre las capas circular y longitudinal de la muscular externa, el submucoso se divide en dos plexos, uno localizado cerca de la *muscularis mucosae* (de Meissner), más interno, y otro, más externo, en contacto con la capa de músculo liso circular (de Henle). En el hombre se ha descrito un tercer plexo intermedio entre los dos anteriores.

Existen diferentes tipos neuronales en los plexos intrínsecos que se clasifican atendiendo a criterios morfológicos, eléctricos, químicos y funcionales. De acuerdo con estos últimos existen neuronas sensoriales, interneuronas, neuronas

motoras musculares y neuronas secretomotoras y vasomotoras.

3.1.2. Regulación nerviosa de las funciones digestivas

Las inervaciones extrínseca e intrínseca (SNE) modulan e integran las funciones gastrointestinales de motilidad, secreción, absorción, flujo de sangre y respuestas inmunitarias a través de patrones organizados de comportamiento que incluyen **mecanismos reflejos** y **programas motores**.

Los reflejos nerviosos mediados por la inervación extrínseca, donde la información y la respuesta llegan y salen al y del sistema nervioso central (SNC), se denominan reflejos largos. Los reflejos cuyos componentes y ejecución se localizan en el SNE son los reflejos cortos que no salen del tracto gastrointestinal **(Figura 2)**.

3.1.2.1. Regulación extrínseca

Las neuronas aferentes parasimpáticas y simpáticas llevan información termosensorial, mecanosensorial y quimiosensorial a distintas zonas del SNC. De esta manera informan acerca de los procesos digestivos que tienen importancia para el mantenimiento de la homeostasis de energía y fluidos y también sobre las sensaciones de malestar y dolor gastrointestinal.

El control reflejo extrínseco se superpone y modula los reflejos locales ejecutados por el SNE. Estas vías reflejas son necesarias para la coordinación de las actividades en las que participan distintas regiones del trato digestivo alejadas entre sí, como ocurre, por ejemplo, en el reflejo gastrocólico. Estos reflejos entero-entéricos utilizan vías que van desde el tracto gastrointestinal y los ganglios prevertebrales, saliendo fuera de la red nerviosa intramural **(Figura 2)**. Están bien caracterizados para funciones de motilidad y son poco conocidos para las otras funciones gastrointestinales.

Las vías extraintestinales también incluyen la comunicación bidireccional entre el SNC y el SNE, el llamado eje **intestino-cerebro** (reflejos largos). El SNE se comporta como un ordenador con sus propias aplicaciones de funcionamiento (*software*), siendo capaz de programar distintos patrones de funcionamiento gastrointestinal de forma independiente de las entradas que llegan del SNC; sin embargo, este último puede modular estos programas.

3.1.2.2. Regulación intrínseca

Está mediada, de forma mayoritaria, por reflejos cortos y programas de comportamiento motor intramurales. Los primeros dependen de entradas sensoriales y los segundos se ponen en marcha de forma cíclica en función de las necesidades del sistema.

En los reflejos cortos intrínsecos todos los componentes del reflejo (vía aferente, red interneuronal integradora y elementos eferentes) se encuentran en el tracto digestivo **(Figura 2)**.

Las neuronas sensoriales, junto con las células endocrinas e inmunitarias, funcionan como una red de vigilancia que detecta los diferentes estímulos y agresiones que llegan al tracto gastrointestinal. Estas neuronas pertenecen, al menos, a tres modalidades sensoriales: quimiosensibles, mecanosensibles y termosensibles.

Las interneuronas, donde se produce la integración de la información y la elaboración de la respuesta, son de dos tipos básicos: ascendentes y descendentes.

Las neuronas eferentes (efectoras) se clasifican en motoras musculares, secretomotoras (incluyen las vasomotoras) y las que inervan las células enteroendocrinas (incluyendo las células del sistema inmunitario gastrointestinal) **(Figura 2, a, b, c, d y e)**.

Las motoras musculares inervan las capas musculares de la pared y pueden ser excitadoras e inhibidoras provocando contracción o relajación de las fibras musculares lisas. Las inhibidoras tienen una descarga tónica, por lo que la contracción de la musculatura gastrointestinal depende del estado de actividad de estas fibras. Normalmente, están silenciosas en sentido aboral (excepto en el vómito). Muchas de las alteraciones motoras del tracto digestivo se deben a problemas funcionales de estas neuronas como algunos tipos de estreñimiento crónico idiopático y la acalasia.

Las secretomotoras y vasomotoras están conectadas directamente con las aferencias primarias intrínsecas y se localizan de forma preferente en el plexo submucosal. Existen dos tipos dependiendo del neurotransmisor que expresan: colinérgicas y no colinérgicas.

Las células enteroendocrinas, localizadas en la mucosa, se activan por estímulos luminales y

Tabla 1. NEUROTRANSMISORES PRESENTES EN LAS SINAPSIS DEL SISTEMA NERVIOSO ENTÉRICO Y QUE CONSTITUYEN EL CÓDIGO QUÍMICO QUE RIGE SU FUNCIÓN

Tipo de neuronas	Neurotransmisores	Función
Sensoriales	CGRP, SP, Chat, Calb	Detección de cambios luminales
Interneuronas ascendentes	Ach	Integración
Interneuronas descendentes	Ach, NO, VIP, 5-HT, SP Ach/NO/VIP/SS Ach/5-HT	Integración Reflejos motores locales Reflejos secretomotores locales
Motoras musculares		
Excitadoras	Ach, taquikininas, Calret	Contracción de fibras musculares lisas
Inhibidoras	NO, VIP, ATP, (?) GABA, NPY, PACAP, CO	Relajación de fibras musculares lisas
Secretomotoras y vasomotoras	Ach VIP, CCK, CGRP, DYN, NPY, SS	Vasoconstricción, vasodilatación, secreciones mucosales
Neuronas que inervan células enteroendocrinas (enterocromafines)	5-HT, taquikininas, bradikininas, CGRP, DYN, NPY	Integración neurohormonal

Chat: colina acetil-transferasa; NOS: □xido n□trico sintasa; Calb: calbindina; Calret: calretinina; DYN: dinorfina; GRP: p□ptido liberador de gastrina (bombesina); CGRP: p□ptido relacionado con el gen de la calcitonina; SP: sustancia P; ENK: encefalinas; 5-HT: 5-hidroxitriptamina; NPY: neurop□ptido Y; VIP: p□ptido intestinal vasoactivo; Ach: acetilcolina; SS: somatostatina; ATP: adenos□n trifosfato; PACAP: p□ptido hipofisario activador de la adenilato ciclasa; CCK: colecistokinina; (?) GABA: □cido γ-aminobut□rico (a□n hay dudas de la presencia de dicho neurotransmisor).

liberan sus mediadores químicos que afectan a las aferencias primarias intrínsecas (y también extrínsecas), tanto excitadoras como inhibidoras **(Figura 2)**. Estas células presentan, a su vez, una densa inervación procedente de fibras efectoras intrínsecas. La fisiología de estas vías es poco conocida, exceptuando la de las células G (secretoras de gastrina), las células D (secretoras de somatostatina) y las células enterocromafines (secretoras de 5-hidroxitriptamina, taquikininas, bradikinina y prostaglandinas).

Para realizar sus funciones, los distintos tipos neuronales del SNE distribuidos por los distintos plexos, tienen un código químico, es decir, estas neuronas expresan una combinación de diferentes neurotransmisores (más de 30 diferentes). Este código químico depende del tipo de neurona, de la especie y del segmento gastrointestinal. Una de las características de este código es su gran plasticidad, especialmente en condiciones fisiopatológicas. En la **Tabla 1** se recogen los principales mediadores sinápticos que constituyen el código químico funcional del SNE.

3.1.2.3. Regulación de las funciones de motilidad

Las funciones de motilidad son reguladas por reflejos extrínsecos, en los que participa el nervio vago, los nervios esplácnicos y pélvicos, y reflejos intrínsecos mediados por el SNE. La inervación extrínseca actúa indirectamente sobre el músculo liso de la pared gastrointestinal modulando la actividad de las neuronas del plexo mientérico.

El **músculo liso gastrointestinal**, responsable de las funciones de motilidad, presenta una serie de características morfológicas y funcionales básicas y otras dependientes de la región donde esté situado. Las células musculares lisas se agrupan en haces ramificados en los que las células se encuentran funcionalmente acopladas, dentro de cada haz, gracias a las uniones que existen entre ellas que actúan como áreas de baja

resistencia eléctrica, lo que favorece el paso de la excitación de una célula a otra. Su inervación se realiza por fibras nerviosas con varicosidades a lo largo de su recorrido, de las que se libera el neurotransmisor.

El potencial de membrana en reposo de estas fibras musculares no es constante y sufre oscilaciones que constituyen las llamadas **ondas lentas** (o **ritmo eléctrico básico**). Estas ondas son generadas por células marcapasos, las **células intersticiales de Cajal**, localizadas en diferentes lugares de la pared digestiva, aunque de forma especial en la capa muscular externa. La amplitud, y en menor medida la frecuencia de estas ondas lentas, es modulada por la inervación extrínseca e intrínseca. En la meseta de máxima despolarización de estas ondas lentas se pueden generar potenciales de acción responsables del incremento en la fuerza de contracción del músculo liso.

Cuando aparece un estímulo, estos potenciales de acción son más frecuentes, o bien desaparecen por hiperpolarización de la membrana de la célula muscular lisa, dependiendo de si el estímulo es excitador o inhibidor. Todo ello se traduce en cambios en la fuerza de contracción de las fibras musculares, mínima cuando sólo aparecen las ondas lentas, y que va aumentando conforme lo hace la frecuencia de descarga de potenciales de acción superpuestos a ellas.

Los trastornos de la motilidad son, a menudo, el resultado de una neuropatía que afecta, sobre todo, a las neuronas motoras inhibidoras. Entre las alteraciones que se relacionan con esta pérdida de control nervioso están la acalasia, el síndrome de colon irritable, esofagitis por reflujo, dispepsia no ulcerosa, etc.

3.1.2.4. Regulación de las funciones secretoras y vasomotoras

El SNE también afecta a las funciones epiteliales que incluyen secreción, absorción, proliferación, función de barrera y defensiva. Los reflejos secretomotores son iniciados por estímulos luminales que actúan sobre receptores mecánicos o químicos.

Aunque existen reflejos locales secretores intrínsecos, hay otros en los que intervienen distintos segmentos intestinales y glándulas anejas. El soporte de estos reflejos son elementos aferentes mucosales, circuitos integradores en los plexos mientérico y submucoso que activan neuronas efectoras secretomotoras submucosas. Estas últimas son vías no colinérgicas que utilizan taquikininas y péptido intestinal vasoactivo (VIP) como neurotransmisores primarios, y ATP y 5-hidroxitriptamina (5-HT) como secundarios.

Las aferencias implicadas en los reflejos vasomotores son excitadas por estímulos térmicos, mecánicos, isquemia, hipoxia, etc. En ellos participan neuronas del plexo submucoso. Su estimulación produce vasodilatación y aumento del flujo sanguíneo mucosal. Las fibras vasoconstrictoras son principalmente noradrenérgicas y pertenecen al sistema nervioso simpático.

3.1.2.5. Regulación de las funciones inmunitarias

Existe una estrecha relación entre el SNE y el sistema inmunitario digestivo. Resultado de esta interacción es el tránsito intestinal acelerado y los fenómenos de hipersecreción gastrointestinal. Tanto las placas de Peyer como las células inmunocompetentes mucosales tienen receptores para los diferentes neurotransmisores que utiliza el SNE. Se sabe también que muchas respuestas secretoras y motoras del tracto digestivo son sensibles a diferentes antígenos (alimentos, toxinas bacterianas, parásitos, etc.) y que la inflamación intestinal conlleva trastornos de motilidad y de otras funciones del sistema gastrointestinal.

3.1.2.6. Regulación de otras funciones

La inervación del tracto digestivo (intrínseca y extrínseca) afecta a otras funciones corporales como la ingesta de alimentos. También está implicada en la función vesicular y del esfínter de Oddi a través de reflejos colinérgicos que provienen del duodeno (enterovesiculares). Además de lo anterior, la parte exocrina del páncreas se afecta por la actividad de fibras nerviosas digestivas (reflejo enteropancreático).

3.2. Regulación humoral

El otro gran sistema de regulación de la actividad gastrointestinal lo constituyen los mecanismos humorales. En ellos participan distintos mediadores químicos, en su mayoría péptidos. En función de la célula de origen del mediador y de la

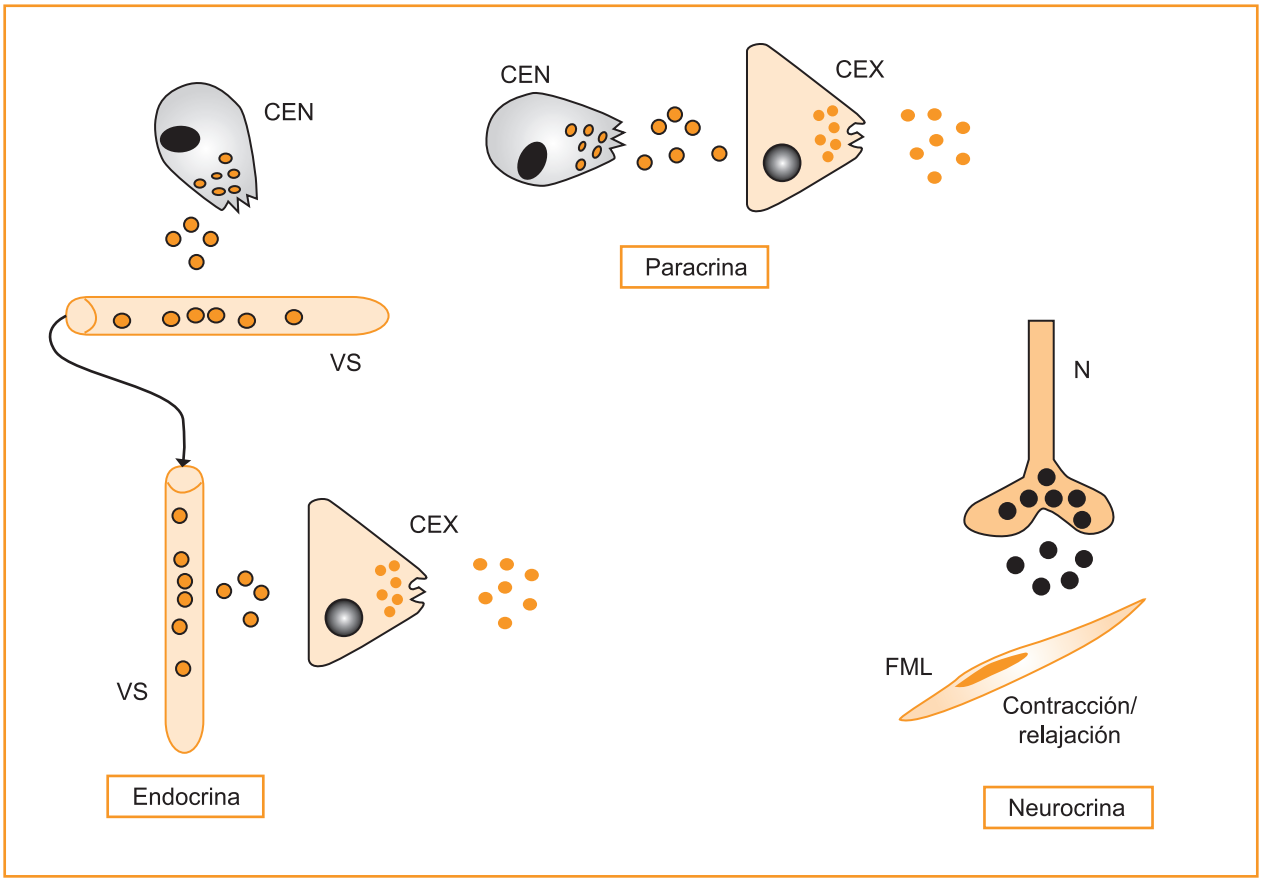


Figura 3. *Esquema de los mecanismos implicados en el control humoral del tracto gastrointestinal. CEN: célula enteroendocrina; CEX: célula secretora exocrina; VS: vaso sanguíneo; FML: fibra muscular lisa; N: neurona.*

ruta que utiliza para contactar con las células diana, se puede clasificar este tipo de regulación en **endocrina**, **paracrina** y **neurocrina** (Figura 3).

La regulación **endocrina** se lleva a cabo por péptidos que se liberan de células endocrinas situadas en la mucosa o submucosa de la pared gastrointestinal y en el páncreas, a la circulación general, y llegan a las células diana, donde ejercen su efecto. Las células afectadas (fibras musculares lisas, células inmunocompetentes, células secretoras exo y endocrinas, células de vasos sanguíneos) pueden localizarse en la propia pared gastrointestinal, en el páncreas, en el hígado (incluyendo la vesícula biliar), modificando la motilidad, secreción, absorción, flujo sanguíneo y funciones inmunitarias.

Existen sólo cinco hormonas gastrointestinales caracterizadas y numerosos péptidos de los cuales, si bien son liberados por células del sistema digestivo, no se conocen sus acciones reguladoras sobre aquél. Del mismo modo, existen otros péptidos aislados del tracto digestivo con claros efectos sobre su funcionalidad, pero de los que no se conocen los mecanismos de liberación fisiológicos (hormonas candidatas).

Las hormonas gastrointestinales son: gastrina, secretina, colecistokinina (CCK), péptido inhibidor gástrico o péptido insulinotrópico dependiente de glucosa (GIP), motilina, y grelina. Entre las hormonas candidatas se pueden citar el polipéptido pancreático (PP), péptido tirosina-tirosina (PYY), enteroglucagón, etc.

Estas hormonas y péptidos se liberan en respuesta a múltiples estímulos presentes en la luz del tubo gastrointestinal, como la concentración de H^+ (acidez), distensión mecánica, tonicidad y presencia de nutrientes.

La regulación **paracrina** ocurre cuando una célula endocrina libera un mediador químico que llega a la célula diana difundiendo a través del líquido extracelular. Los efectos paracrinos de los péptidos

digestivos son, en principio, localizados en la zona de liberación. Sin embargo, estos agentes paracrinos pueden afectar a otras células endocrinas, que liberan hormonas con una actuación en lugares alejados del primero, siendo por tanto los efectos paracrinos más extendidos en este caso. Un ejemplo de actuación paracrina es la secreción de ácido gástrico por la liberación de histamina en células tipo enterocromafín de la propia mucosa gástrica que actúan sobre las células parietales de las glándulas fúndicas.

La actuación paracrina adquiere especial relevancia en la actuación del sistema inmunitario gastrointestinal, que está muy desarrollado y constituye un potente sistema de defensa frente a antígenos alimentarios, parásitos y microorganismos patógenos.

Existen diversos componentes en el sistema inmunitario gastrointestinal, como los ganglios mesentéricos, placas de Peyer, e inmunocitos mucosales y submucosales. Estos dos últimos secretan distintos mediadores de la inflamación (histamina, prostaglandinas, leucotrienos, citokinas) que por vía paracrina afectan a la actividad de distintos efectores gastrointestinales, como células musculares lisas, células secretoras y neuronas del SNE. La alteración de este sistema de defensa da lugar a importantes trastornos gastrointestinales, como la enfermedad celiaca y la enfermedad inflamatoria intestinal.

La actuación **neurocrina** se refiere a la liberación de péptidos por células nerviosas tanto extrínsecas como intrínsecas de la pared gastrointestinal. La actuación de estos agentes neurocrinos (neurotransmisores) ha sido y será discutida en apartados anteriores y posteriores de este Capítulo. A su vez estos neuropéptidos pueden actuar liberando o inhibiendo la liberación de otros mediadores hormonales y/o paracrinos.

3.3. Regulación neurohumoral de las funciones digestivas

El hecho de que se haya estudiado por separado la regulación nerviosa y humoral (endocrina y paracrina), con fines didácticos, no significa que ambas funcionen independientemente. De hecho, ambos sistemas de control interaccionan para regular las distintas funciones digestivas, tal y como se verá en algunos ejemplos más adelante (secreción de ácido gástrico). Todos los efectores del tracto gastrointestinal tienen una actividad de reposo que está modulada por la actuación conjunta de células nerviosas y enteroendocrinas. Ante la presencia de estímulos procedentes de diferentes lugares, o incluso generados por la propia actividad motora o secretora gastrointestinal, esta información es integrada por los sistemas nervioso y humoral para enviar una respuesta de control a las células efectoras. Así, la actividad nerviosa puede liberar hormonas o agentes paracrinos, y hay hormonas que pueden modificar la actividad de las neuronas.

4. Motilidad del tracto digestivo

4.1. Masticación

La masticación es una función del tracto digestivo que cumple varias funciones:

a) Lubrifica el alimento al mezclarlo con la saliva.

b) Propicia el inicio de la digestión de los hidratos de carbono de la dieta, ya que la saliva contiene una α-amilasa (ptialina).

c) Divide de forma mecánica el alimento en trozos más pequeños favoreciendo la deglución y su posterior mezcla con el resto de las secreciones del tubo digestivo.

Aunque en su inicio y en algunas ocasiones es un acto voluntario, se trata de un comportamiento reflejo.

4.2. Deglución

Es el proceso por el que el bolo alimenticio formado en la cavidad oral es transportado hasta el estómago atravesando la faringe y el esófago. Es un proceso que en su inicio es voluntario y después, en su totalidad, reflejo. Está controlado por el centro de la deglución, localizado en la formación reticular del tallo encefálico. Es una función estrictamente motora que dura pocos segundos y que implica la actividad contráctil coordinada e integrada de la cavidad oral, faringe, esófago y zona proximal del estómago.

De las tres **fases** en que se divide la deglución las dos primeras, **oral** y **faríngea**, duran menos

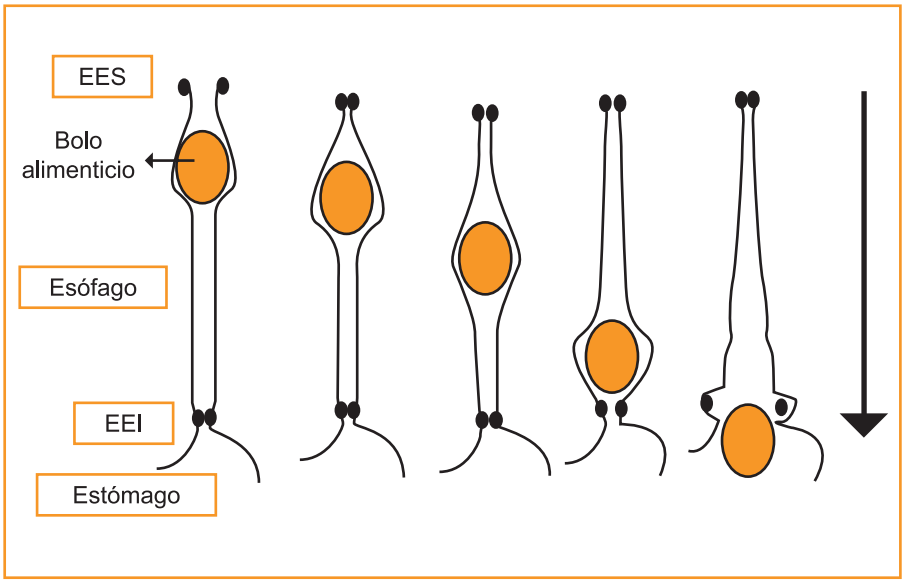


Figura 4. *Motilidad del esófago. Peristaltismo primario responsable del movimiento del bolo alimenticio desde la faringe al estómago. EES: esfínter esofágico superior; EEI: esfínter esofágico inferior.*

de un segundo y consisten en una sucesión coordinada de contracciones musculares que empujan el bolo hacia el esófago. Hay también una serie de cambios en estructuras respiratorias, como la laringe y las cuerdas vocales, para evitar la entrada del alimento a las vías respiratorias. Estas dos fases terminan con el paso del bolo por el esfínter esofágico superior (EES).

En la tercera fase, la **esofágica**, la motilidad de este segmento conduce el bolo hasta el estómago.

4.2.1. Motilidad del esófago

El esófago es una estructura tubular de 25 cm de longitud cuya principal y única función es conducir el bolo alimenticio desde la faringe al estómago. Presenta un epitelio mucosal escamoso estratificado. La submucosa contiene algunas glándulas. La muscular externa está formada en su tercio superior por músculo estriado, el tercio inferior, por músculo liso y en el tercio medio coexisten ambos tipos.

La inervación extrínseca de ambos tipos de músculo corre a cargo de fibras vagales. Al estriado llegan fibras colinérgicas excitadoras e inhibidoras con NO como neurotransmisor. El músculo liso es inervado indirectamente por fibras preganglionares parasimpáticas a través de neuronas del plexo mientérico.

En la parte superior e inferior del esófago existen dos esfínteres el EES y el esfínter esofágico inferior (EEI). Entre degluciones los dos esfínteres permanecen cerrados, y las paredes del esófago están pegadas la una a la otra. Esta situación previene la entrada de aire al tubo digestivo y el reflujo del contenido gástrico hacia el esófago **(Figura 4)**.

Durante la deglución los esfínteres y el cuerpo del esófago actúan de forma coordinada. Inmediatamente después de que la onda de contracción de la faringe alcance su zona distal, el EES se abre y permite el paso del bolo alimenticio; a continuación se vuelve a cerrar retornando a su tono de reposo. En este momento se inicia una onda peristáltica que recorre toda la longitud del esófago en sentido oral-aboral **(peristalsis primaria)**. Cuando esta onda alcanza el EEI, éste se relaja y deja pasar el bolo hasta el estómago, y recupera enseguida su tono de reposo, cerrándose. Existe una **peristalsis secundaria,** que se inicia de forma independiente de las contracciones faríngeas de la deglución. Esta peristalsis sólo aparece en dos situaciones, la primera cuando la onda primaria no ha podido vaciar el contenido esofágico al estómago, y la segunda cuando hay reflujo de contenido gástrico hacia el esófago **(Figura 4)**.

La regulación de la motilidad esofágica está bajo control nervioso, tanto extrínseco como intrínseco, y humoral. También intervienen las propiedades intrínsecas de las fibras musculares lisas (ondas lentas).

La relajación del EES está coordinada con la contracción de la musculatura faríngea que eleva la faringe y relaja el músculo cricofaríngeo y su cierre se debe a factores elásticos de las estructuras de su pared y a la contracción de este músculo.

La peristalsis del cuerpo del esófago está controlada por mecanismos extrínsecos, centrales en el caso del músculo esquelético y periféricos

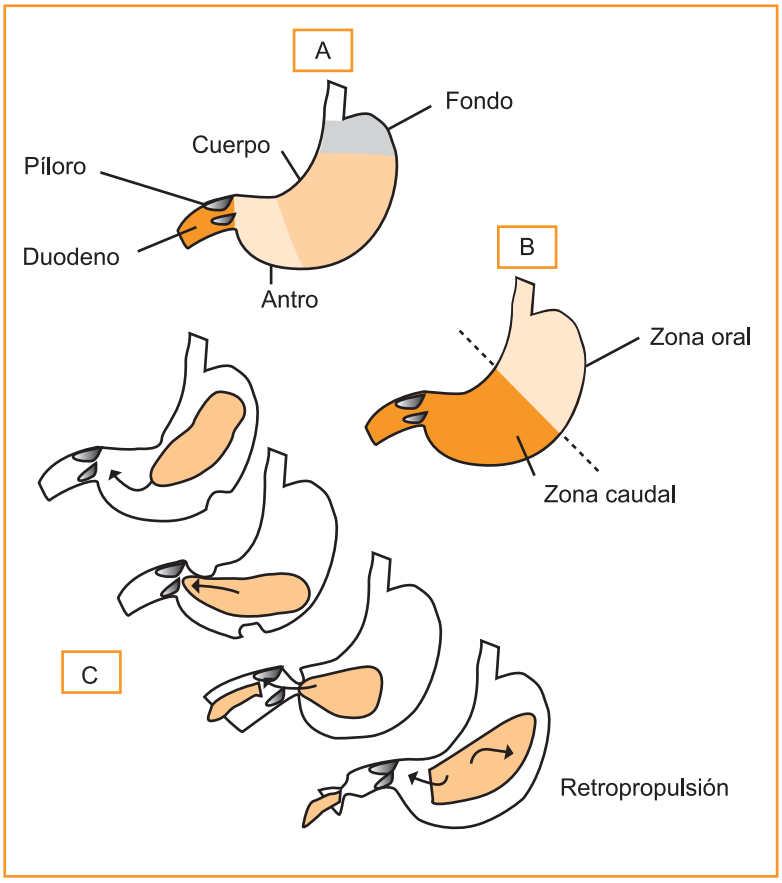


Figura 5. *Zonas anatómicas del estómago (A), zonas motoras (B) y motilidad gástrica (C).*

para el músculo liso, en los que interviene el plexo mientérico. También, y para el tercio inferior y medio, hay un control intrínseco. La información aferente es muy importante en los patrones motores esofágicos, así, el tamaño del bolo alimenticio, y en consecuencia la amplitud de la distensión esofágica puede iniciar una peristalsis secundaria y/o modificar la intensidad de las contracciones.

La motilidad del EEI (del músculo circular que lo forma) está controlada por mecanismos nerviosos intrínsecos y extrínsecos y humorales. El tono de reposo de este esfínter es de origen miogénico, aunque puede modificarse por influencias nerviosas colinérgicas y por hormonas como la gastrina, que lo aumentan, mientras que la estimulación β-adrenérgica y la prostaglandina E_1 lo disminuyen. La llegada de la onda peristáltica primaria relaja el EEI a través de la actuación sobre él de fibras vagales o intrínsecas no colinérgicas que expresan NO y VIP como neurotransmisores.

Los trastornos de los mecanismos motores del esófago, y en especial del EEI, tanto por alteraciones musculares como nerviosas y humorales, dan lugar a trastornos como acalasia, enfermedad por reflujo y espasmos esofágicos difusos.

4.3. Motilidad gástrica

La motilidad del estómago está determinada por las funciones que tiene asignadas, y que son:

1. Reservorio de los alimentos durante una comida.

2. Disminuir el tamaño de las partículas de alimento y mezclarlas con las secreciones luminales para favorecer la digestión.

3. Vaciar el contenido gástrico hacia el duodeno a una velocidad y con un patrón compatible con la capacidad digestiva y absortiva del intestino delgado.

Desde un punto de vista motor, el estómago puede ser dividido en dos regiones, la **zona oral**, que se corresponde anatómicamente con el fondo y parte del cuerpo, y la **zona caudal**, que incluye la parte distal del cuerpo y el antro **(Figura 5, A y B)**. Ambas zonas se diferencian en sus patrones de motilidad, que se relacionan con las funciones que realizan. La región oral esta fundamentalmente implicada en la recepción del alimento ingerido, y la caudal de forma mayoritaria en la regulación del vaciamiento gástrico. Ambas regiones intervienen en la división mecánica y mezcla de los alimentos con las secreciones gástricas.

4.3.1. Llenado gástrico

De forma simultánea a la relajación del EEI se produce una relajación de la zona oral del estómago. Esta **relajación receptiva** se produce por la relajación de la musculatura lisa de la pared de la zona oral. Este comportamiento se repite con cada episodio de deglución, lo que permite la

entrada a este divertículo de grandes volúmenes de alimento con incrementos mínimos de la presión intragástrica (aproximadamente 1.500 ml con sólo un aumento en la presión de 10 mm de Hg). Este comportamiento motor que permite el llenado del estómago está controlado por un reflejo vagovagal con la posible participación del NO y/o VIP como neurotransmisores. Esta relajación receptiva puede considerarse como el último acontecimiento del reflejo de deglución.

4.3.2. Vaciamiento gástrico

Tras el llenado gástrico, en la zona oral se producen pequeños cambios tónicos de la presión intragastrica que disminuyen el tamaño del estómago conforme se va vaciando. Debido a esta baja actividad contráctil, el contenido gástrico apenas se mezcla, permaneciendo los alimentos organizados en capas ordenadas en función de la densidad del material que las compone. La superior es la capa de grasa ingerida.

En el cuerpo, en la línea divisoria entre la región oral y caudal, la actividad contráctil es sensiblemente mayor y aparece de forma continua tras la ingestión de alimento.

El patrón de motilidad consiste en ondas peristálticas **(Figura 5, C)** que se inician por la actividad espontánea rítmica de células marcapasos. Estas ondas lentas, sobre las que se superponen espigas de potenciales de acción, determinan el inicio y mantenimiento de la peristalsis del estómago caudal. Sobre estas contracciones espontáneas caudales actúan mecanismos reguladores nerviosos y hormonales excitadores e inhibidores que modifican sus características, aumentando o disminuyendo la velocidad, fuerza de contracción y frecuencia. La vagotomía, al contrario que la estimulación vagal, disminuye las contracciones. La actividad simpática también las disminuye. Algunas hormonas, como la gastrina y la motilina, incrementan la actividad contráctil del estomago caudal, mientras que la somatostatina, secretina y GIP la inhiben.

Las ondas peristálticas iniciadas en la región proximal del estómago caudal se dirigen hacia el antro y el píloro (unión gastroduodenal), aumentando su fuerza y velocidad **(Figura 5, C)**.

Esta actividad motora caudal permite la mezcla del alimento con las secreciones gástricas y su progresión aboral. Conforme la onda se acerca al píloro, parte del quimo pasa al duodeno proximal. Debido a la velocidad de la onda en la zona pilórica, el píloro rápidamente se cierra y el contenido gástrico es forzado en sentido oral, de nuevo, hacia el cuerpo **(retropropulsión)** **(Figura 5, C)**. Estos potentes movimientos retrógrados del contenido luminal permiten la mezcla del alimento con el jugo gástrico y la disminución en el tamaño de las partículas de alimento. Las partículas de un tamaño superior a 2 mm no se vacían del estómago, ya que el tamaño de la apertura pilórica no lo permite.

El **píloro** está formado por dos anillos de músculo liso circular tras los que se sitúa una banda de tejido conectivo que lo separa del duodeno proximal (bulbo duodenal). Aunque persiste la discusión acerca de su carácter de esfínter, el píloro presenta comportamientos motores independientes del antro (oral) y el duodeno (aboral) y una densa inervación simpática y parasimpática inhibidora y excitadora. Algunas hormonas también afectan a la motilidad de esta estructura, inhibiéndola, como la secretina, CCK y GIP. Este comportamiento motor permite que juegue un papel importante, junto con la motilidad del estómago caudal, en la regulación del vaciamiento gástrico y evite el reflujo duodenogástrico.

Durante los periodos interdigestivos (ayuno) la motilidad de la zona caudal cambia, apareciendo un patrón motor diferente, los complejos migradores motores (CMM), que se estudiarán más adelante.

4.3.3. Regulación del vaciamiento gástrico

Desde la ingestión del alimento el contenido gástrico tarda unas horas en vaciarse al intestino delgado. Los mecanismos que regulan el vaciamiento del estómago tienen como objetivo la óptima digestión y absorción de esos alimentos.

El vaciamiento del quimo sigue un orden determinado, modificándose la velocidad en función de las propiedades físicas y químicas de los alimentos ingeridos. Los líquidos comienzan a vaciarse inmediatamente y su velocidad depende de su composición química y su tonicidad. Los líquidos isotónicos se vacían antes que los hiper e hipotónicos. La velocidad de vaciamiento es más lenta cuando su concentración en H^+ y lípidos es alta.

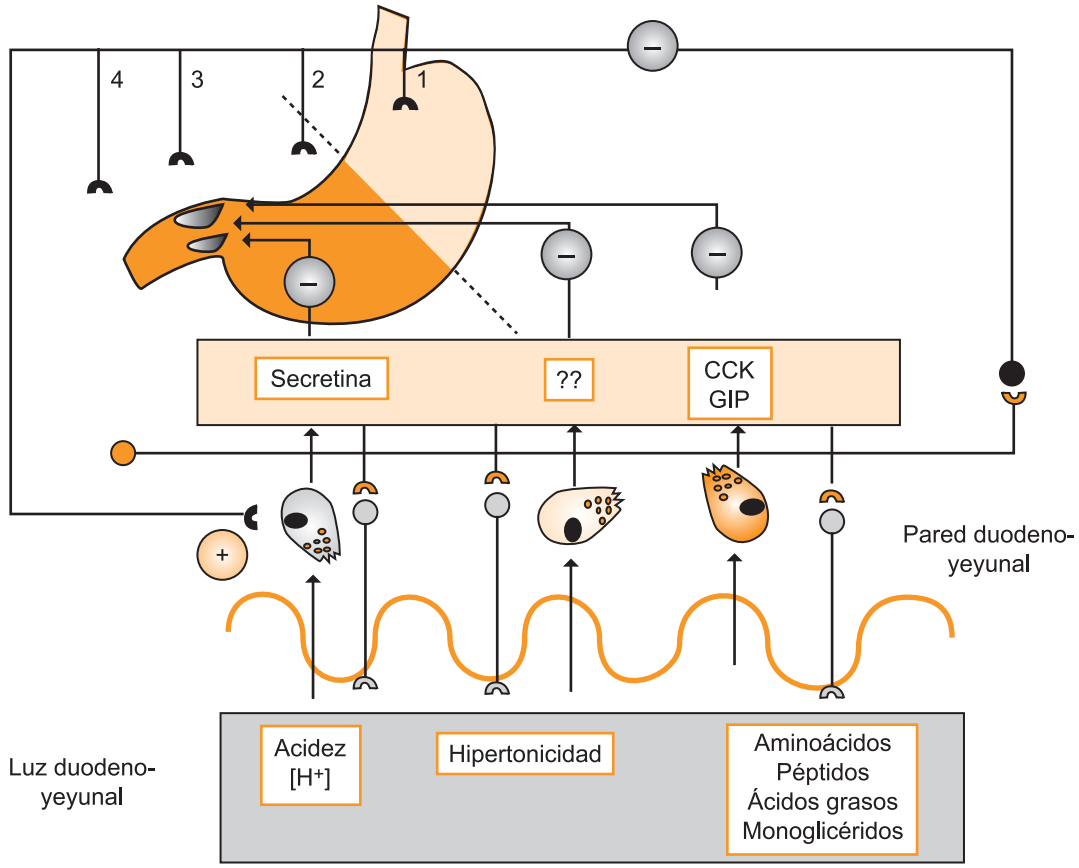


Figura 6. *Regulación del vaciamiento gástrico por estímulos duodenales. 1: aumento de la distensibilidad de la zona oral; 2: disminución de la frecuencia y magnitud de las contracciones del estómago caudal; 3: contracción del píloro; 4: estimulación de las contracciones segmentarias del duodeno; CCK: colecistokinina; GIP: péptido gastrointestinal.*

Los sólidos tienen una fase inicial de retardo hasta que su tamaño se reduce a unas dimensiones mínimas que permiten su vaciamiento (< 2 mm). Tras alcanzar su el tamaño crítico, su composición química es la que determina la velocidad de vaciamiento.

El vaciamiento gástrico está determinado, en último término, por la motilidad del estómago, los patrones motores de la unión gastoduodenal (píloro) y la motilidad del duodeno proximal. Cualquier mecanismo que modifique estos tres procesos afectará a la velocidad y patrón de dicho vaciamiento. Aquellos estímulos que, por distintos mecanismos, disminuyen la distensibilidad de la zona oral, incrementan las contracciones (frecuencia y magnitud) del estómago caudal, inhiben las contracciones pilóricas y las segmentarias del duodeno, incrementan la velocidad de vaciamiento gástrico. Aquellos otros que tengan acciones opuestas retrasarán el vaciamiento de este divertículo **(Figura 6)**.

Una vez que el quimo ha comenzado a vaciarse al duodeno proximal, se estimulan una serie de receptores de su pared, en función de las propiedades físico-químicas del contenido vaciado, que a través de mecanismos de retroalimentación nerviosos y humorales enlentecen el vaciamiento para permitir una correcta digestión y absorción intestinal **(Figura 6)**.

Los principales estímulos presentes en duodeno son:

1. Acidez elevada.

2. Hipertonicidad (que se incrementa con la digestión intestinal).

3. Presencia de productos de la digestión de las proteínas (aminoácidos y péptidos).

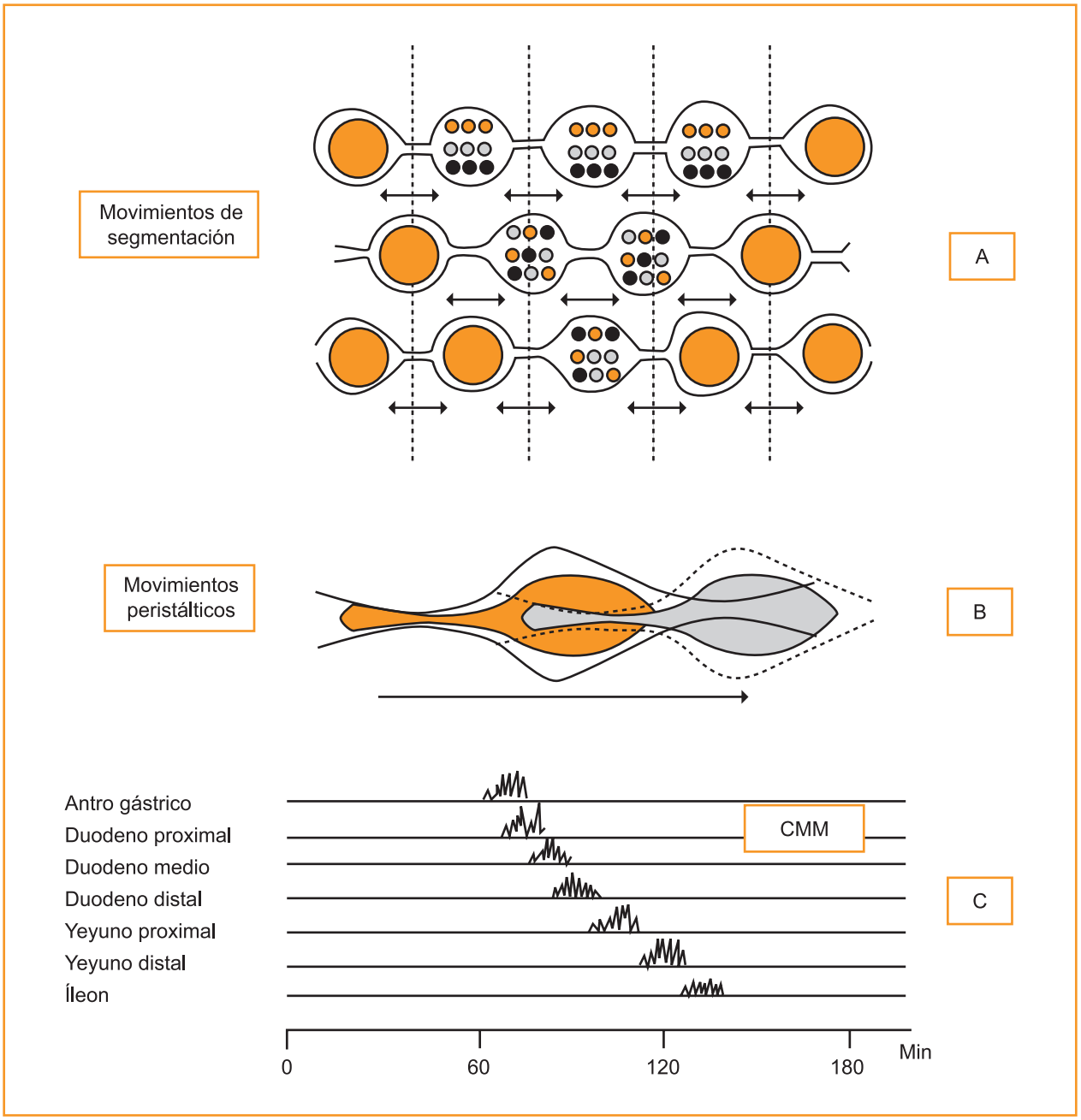


Figura 7. *Patrones motores del intestino delgado. A: movimientos de segmentación rítmica; B: movimientos peristálticos; C: complejos migradores motores (CMM). En la imagen se representa el registro de la actividad contráctil en distintas zonas del estómago (antro) e intestinales.*

4. Productos de la digestión de las grasas (ácidos grasos y monoglicéridos).

Todos ellos, a través de mecanismos nerviosos y hormonales, todavía no bien conocidos, modifican el vaciamiento gástrico, normalmente enlenteciéndolo **(Figura 6)**.

4.4. Vómito

El vómito (o emesis) es una expulsión forzada del contenido gástrico, y a menudo del contenido intestinal proximal, provocada por distintas alteraciones tanto del tracto gastrointestinal como de

otros sistemas orgánicos. Puede tener consecuencias importantes relacionadas con el balance ácido-base e hidromineral, la desnutrición o la neumonía por aspiración.

Normalmente, es el episodio final de una serie de acontecimientos previos, que son las náuseas y las arcadas. Las náuseas se definen como una sensación desagradable que coinciden con cambios motores en estómago e intestino delgado proximal (descenso en la motilidad gástrica, peristalsis reversa en intestino delgado). La arcada consiste en movimientos respiratorios bruscos de tipo espasmódico, acompañados de contracción de antro y relajación del cuerpo y el fondo gástricos.

Es un comportamiento reflejo controlado por un **centro bulbar del vómito** que, a su vez, está influido por una **zona quimiorreceptora de disparo**, fuera de la barrera hematoencefálica. Los estímulos que lo disparan son diversos, entre ellos cabe citar algunos que afectan directamente el centro del vómito, como la distensión gástrica e intestinal, la estimulación mecánica de la faringe, los episodios de dolor intenso por alteraciones de ciertos órganos, la estimulación de receptores laberínticos (mareo por cinetosis) y la estimulación química (eméticos) de receptores gástricos y duodenales. Otros estímulos afectan a la zona quimiorreceptora de disparo como algún tipo de eméticos (apomorfina) y diversas toxinas bacterianas y situaciones de alteración metabólica (cetosis).

4.5. Motilidad del intestino delgado

Los patrones motores del intestino delgado en el periodo posprandial tienen una doble finalidad, la primera es facilitar los procesos de digestión y absorción del contenido luminal por la mezcla del alimento con las secreciones intestinales (bilis, jugo pancreático, secreciones mucosas, etc.) y la circulación y renovación de la capa en contacto directo con el epitelio absortivo (enterocitos) para completar la digestión y favorecer la absorción. También permite el progreso oral-aboral de los materiales no digestibles hasta su vaciamiento en el intestino grueso a través de la unión íleo-cecal.

En el periodo interdigestivo, se instauran patrones diferentes de motilidad intestinal.

4.5.1. Motilidad posprandial

Durante este periodo la presencia de alimento inicia dos tipos de movimientos, los de segmentación rítmica y los peristálticos.

Los movimientos de **segmentación rítmica** son los más frecuentes y ocupan la mayor parte del tiempo que el quimo permanece en el intestino delgado. Son contracciones y relajaciones cíclicas localizadas en pequeños segmentos que ocasionan un movimiento de vaivén oral-aboral-oral del contenido luminal, lo que facilita su mezcla con las secreciones que vierten a la luz intestinal y la renovación de la capa en contacto con la mucosa **(Figura 7, A)**.

Aunque estos movimientos de segmentación van más dirigidos a la mezcla que a la progresión, la disminución en la frecuencia de estas contracciones desde el duodeno (12/min) hasta el íleon (8/min) permite un desplazamiento aboral del contenido intestinal. Estas contracciones rítmicas están determinadas por la presencia de ondas lentas iniciadas por las propias fibras musculares lisas, sobre las que se superponen potenciales de acción.

Los movimientos **peristálticos** son mucho menos frecuentes que los de segmentación y se limitan a pequeños segmentos intestinales **(Figura 7, B)**.

En general, la progresión del alimento en el intestino delgado es lenta, lo que favorece los procesos de digestión y absorción.

El inicio de la motilidad del intestino delgado es de origen intrínseco, participando la actividad espontánea de las fibras musculares lisas y la actividad del SNE. No obstante, hay influencias extrínsecas tanto nerviosas como humorales.

Existen distintos reflejos intestinales de importancia. La **ley del intestino** postula que la presencia del bolo alimenticio en el intestino produce una contracción delante del bolo y una relajación en la zona distal, lo que permite su progresión aboral (comportamiento peristáltico). Existen otros reflejos motores como el **intestino-intestinal** por el que la sobredistensión de un segmento intestinal produce una relajación del resto del intestino delgado. El reflejo **gastro-ileal** favorece el vaciado del íleon ante un incremento de la actividad motora y secretora del estómago. También se ha descrito que la distensión ileal inhibe, por la liberación de un péptido gastrointestinal (probablemente, PYY), el vaciamiento gástrico (freno ileal).

4.5.2. Motilidad interdigestiva (ayunas)

El patrón motor durante los periodos interdigestivos (varias horas después del procesamiento digestivo del alimento) o en un estado de ayunas se caracteriza por periodos de intensa actividad motora con ondas peristálticas que se inician en el antro gástrico y que se desplazan a gran velocidad en sentido oral-aboral hasta íleon terminal. Estos periodos, que duran, en cada segmento, entre 5 y 10 minutos, terminan bruscamente y van acompañados de fenómenos secretores. Son los **complejos migradores motores (CMM)** (Figura 7, C). Tras éstos se instaura un periodo de reposo motor durante 75-90 minutos, que es el tiempo que el CMM va desde el antro gástrico hasta el íleon terminal. Al llegar a este último segmento, se inicia uno nuevo en el antro. Este comportamiento motor se inicia en el antro gástrico por descargas vagales que liberan motilina; sin embargo, en el intestino delgado es la motilina, independientemente de la inervación extrínseca, la que inicia los CMM.

La función de estos CMM es limpiar el estómago y el intestino delgado de los restos de alimento no digeridos y de la microbiota de estos segmentos, vaciando todo ello al intestino grueso. Esta limpieza evita el sobrecrecimiento bacteriano en intestino delgado, que puede provocar alteraciones en el balance de fluidos y en los procesos digestivos que cursan con diarreas.

En el cambio entre el patrón de CMM y el posprandial parece participar la liberación de CCK y gastrina y la actividad vagal.

4.6. Motilidad del intestino grueso. Defecación

Las funciones motoras de este segmento intestinal van encaminadas a completar la absorción de agua y algunos electrólitos y expulsar los residuos no digestibles fuera del organismo (defecación).

Los patrones motores del intestino grueso son dos:

1. Los **movimientos de segmentación**, dirigidos a mezclar y hacer circular el contenido luminal para favorecer la absorción.

2. Los **movimientos en masa** o de progresión del contenido intestinal hacia el recto y el canal anal.

La segmentación del intestino grueso ocurre en todas sus regiones, tanto proximal (ciego y colon ascendente-transverso) como distal (colon descendente y sigmoideo), e incluso algo en recto. Estos movimientos, teniendo en cuenta la organización anatómica especial del intestino grueso, se denominan **haustraciones**, y dividen el intestino grueso en segmentos ovoideos, las haustras. Este patrón es más frecuente en las zonas más distales.

Cuando cesan los movimientos de segmentación se inician los **movimientos en masa**, que desplazan el contenido luminal de una región a otra en sentido aboral. Estos movimientos se producen de una a tres veces al día en individuos sanos.

Una vez que el recto es llenado con materia fecal, se inicia el reflejo retroesfintérico que relaja el esfínter anal interno. Este reflejo, si se produce en situación adecuada, da lugar al reflejo de defecación.

Existen reflejos colocolónicos y gastrocólicos que modifican la motilidad del colon. Así, en el primero, la sobredistensión de un segmento de éste provoca la relajación del resto. En el segundo, la entrada de alimento al estómago estimula los movimientos en masa del intestino grueso.

La regulación de la actividad motora del intestino grueso es compleja y poco conocida. Se inicia por la actividad intrínseca del binomio células intersticiales de Cajal-células musculares lisas, participando el SNE, la inervación extrínseca y factores humorales con actuación endocrina o paracrina.

5. Secreciones digestivas

La función secretora del sistema digestivo queda a cargo de las glándulas exocrinas situadas en la mucosa y submucosa del tracto digestivo (secreciones gástricas e intestinales) y las glándulas anejas (salivales, páncreas exocrino e hígado), que vierten sus secreciones a la luz gastrointestinal (saliva, jugo pancreático y bilis).

Estas secreciones participan en los procesos de digestión química de los alimentos, degradando las moléculas grandes y complejas que los componen en otras más simples y pequeñas que pueden ser incorporadas, por los procesos de absorción, al medio interno.

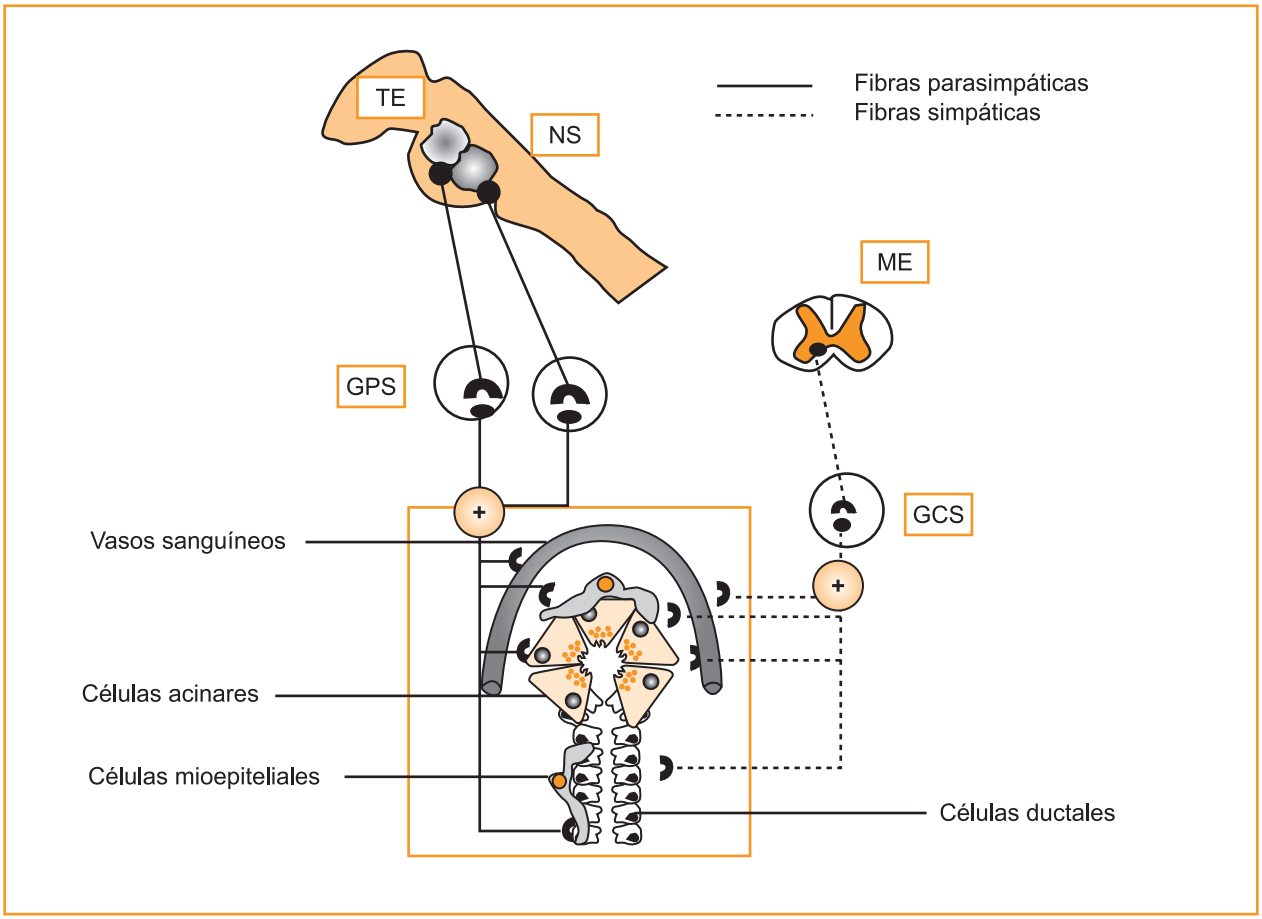


Figura 8. *Regulación nerviosa de la secreción de saliva. TE: tallo encefálico; NS: núcleos salivales; ME: médula espinal; GCS: ganglio cervical superior (simpático); GPS: ganglios parasimpáticos.*

5.1. Secreción salival

La saliva es secretada por las glándulas salivales (de tipo acinar). Existen tres pares de glándulas salivales mayores (parótidas, mandibulares y sublinguales), y otras más pequeñas o menores, distribuidas por el epitelio oral y la lengua. Las funciones de la saliva se pueden clasificar en tres grandes grupos:

a) Lubrificación.
b) Protección.
c) Digestión.

Dentro de las primeras, la saliva es necesaria para facilitar la masticación y deglución y es imprescindible para una correcta fonación. En el segundo grupo, la saliva protege el aparato masticador y la mucosa oral de infecciones y otras agresiones presentes en la cavidad oral gracias a la presencia de compuestos antibacterianos y antivirásicos (lisozima e IgA), como por su capacidad de dilución y tamponamiento de sustancias potencialmente peligrosas. De hecho, los individuos con xerostomía tienen mayor incidencia de caries dentales e infecciones bucales. Por último, dentro de las funciones digestivas de la saliva se puede citar su papel en la correcta estimulación de las papilas gustativas. En el lactante es determinante en su alimentación para un reflejo de succión adecuado y de forma discreta, por su contenido en lipasa, en el inicio de la digestión grasa de su dieta. La presencia de una α-amilasa (ptialina) también contribuye al inicio de la digestión de los hidratos de carbono.

La saliva es un líquido ligeramente hipotónico que está formado por componentes inorgánicos y orgánicos. Los electrólitos son los componentes inorgánicos mayoritarios (Na^+, K^+, Cl^- y HCO_3^-), y también contiene Ca^{2+}, I^- y F^- en cantidades

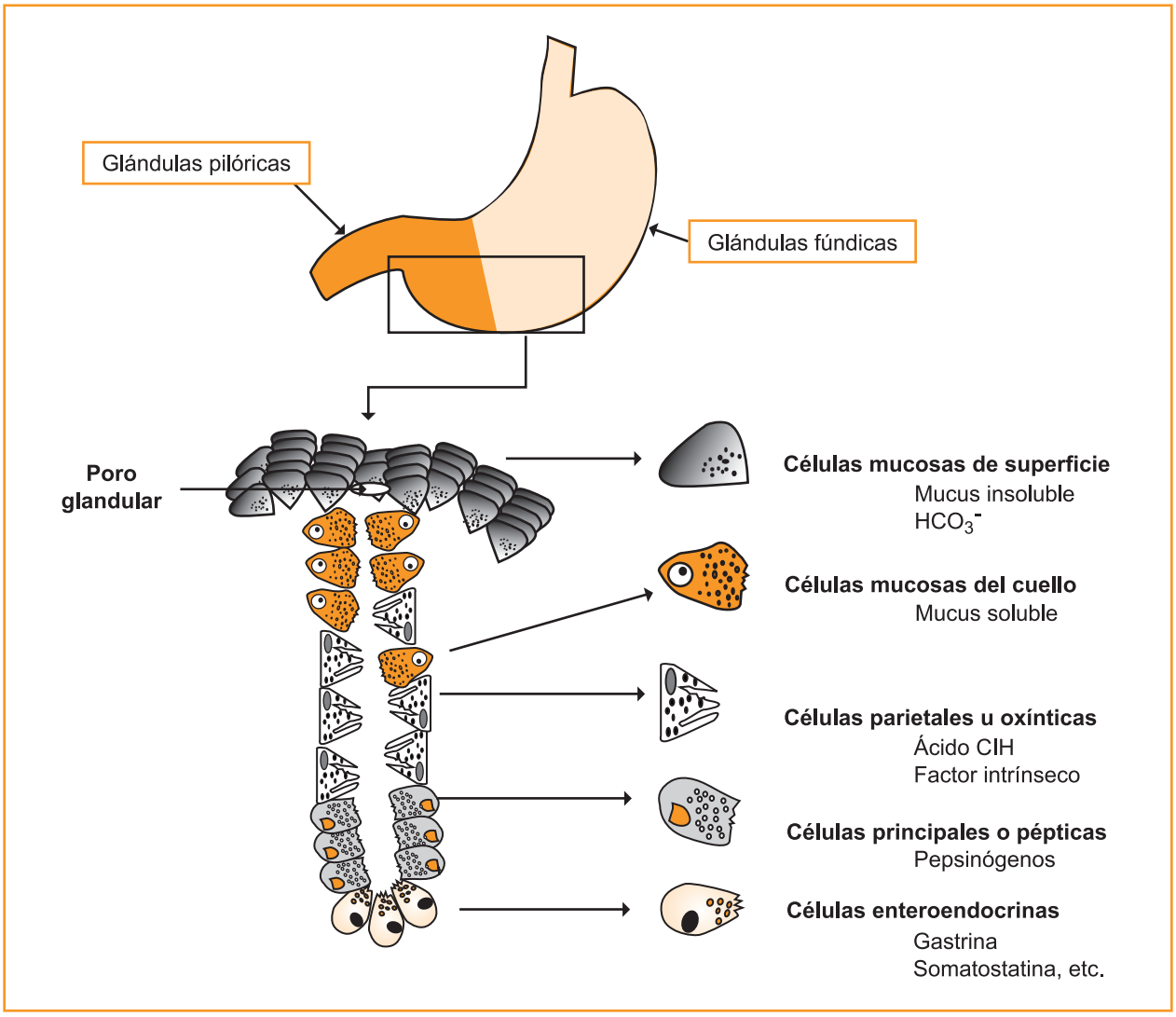


Figura 9. *Zonas secretoras del estómago y estructura de una glándula de la mucosa gástrica.*

significativas. Dentro de los orgánicos se deben mencionar las enzimas digestivas (amilasa y lipasa), mucus, glicoproteínas, lisozima, lactoferrina y calicreína, entre otros.

La regulación de la secreción salival es exclusivamente nerviosa y corre a cargo de las divisiones parasimpática y simpática del SNA. Las influencias hormonales sólo intervienen modificando la composición de la saliva secretada. Una característica importante es que ambas divisiones del SNA estimulan la secreción de saliva, a diferencia de sus actuaciones opuestas en otros territorios corporales. La estimulación parasimpática es más efectiva que la simpática estimulando la secreción de las células acinares de la glándula.

Las fibras nerviosas autónomas ejercen sus funciones actuando sobre diferentes efectores glandulares que participan en la secreción de saliva. Estos elementos son: las células acinares, mioepiteliales y ductales y los vasos sanguíneos. Todos ellos tienen receptores para los neurotransmisores que liberan las fibras nerviosas del SNA **(Figura 8)**. La secreción de saliva se basa en un comportamiento reflejo iniciado en receptores mecánicos y químicos localizados en el aparato masticador y la cavidad oral y faríngea. La información recogida por estos receptores es enviada a los núcleos salivales bulbares **(Figura 8)**, que, a través de vías efectoras autónomas, estimulan la secreción de la glándulas salivales.

5.2. Secreciones gástricas

La secreción que se vierte a la luz del estómago se denomina **jugo gástrico** y es una mezcla de secreciones procedentes de células epiteliales de la superficie mucosal y de las glándulas gástricas **(Figura 9)**. Los principales componentes de estas secreciones, aparte del agua, son ácido clorhídrico, pepsinógenos, factor intrínseco, mucus soluble, mucus insoluble o visible y HCO_3. Desde una perspectiva secretora, el estómago puede dividirse en dos regiones, una formada por el fondo y el cuerpo, que constituye el 80% de la mucosa gástrica y contiene las **glándulas oxínticas o fúndicas**, y la otra (el 20% restante), la mucosa antral con las **glándulas pilóricas (Figura 9)**.

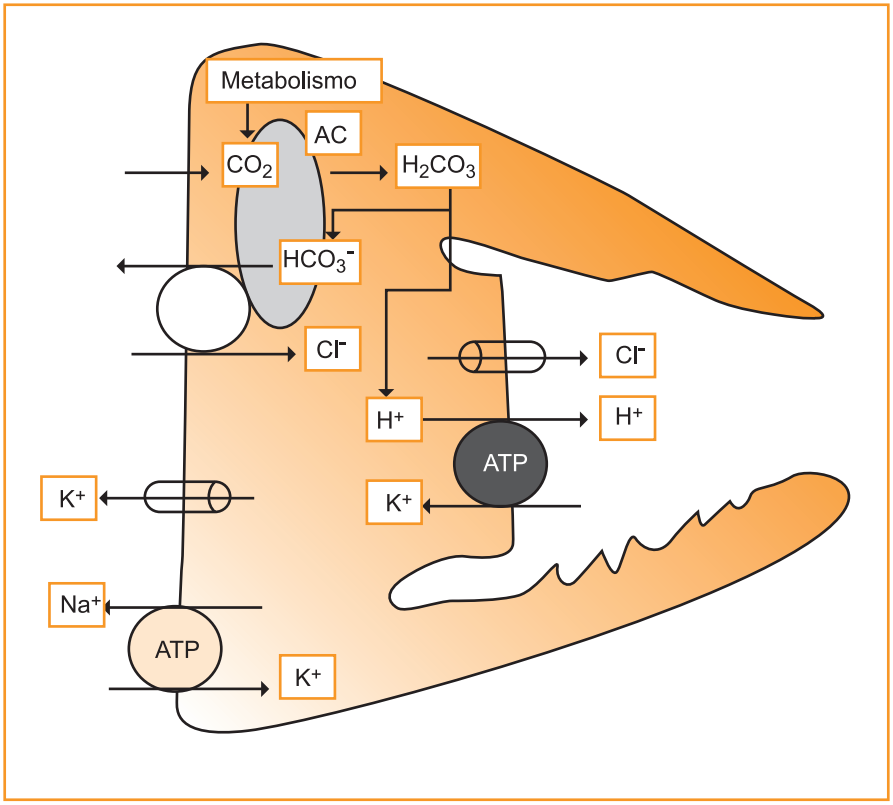


Figura 10. *Mecanismos celulares de la secreción de ácido por las células parietales de las glándulas fúndicas. AC: anhidrasa carbónica.*

Las glándulas oxínticas tienen una estructura alargada, abriéndose a través de un poro en la superficie mucosal. Desde el lumen a la zona más profunda de la mucosa se encuentran distintos tipos celulares que secretan los distintos componentes del jugo gástrico. En la superficie y tapizando el poro se encuentran las células mucosas de superficie encargadas de secretar el mucus visible o insoluble y el HCO_3^-. Las células mucosas del cuello de la glándula secretan mucus soluble. Situadas más internamente se encuentran las células parietales (u oxínticas) que secretan ácido y factor intrínseco y las células principales (o pépticas), que secretan pepsinógenos. También se pueden encontrar células tipo enterocromafín, que liberan histamina y células D secretoras de somatostatina **(Figura 9)**. También hay células madre que se dividen y se diferencian en los distintos tipos celulares de la glándula.

Las glándulas pilóricas tienen abundantes células productoras de mucus y células pépticas. En ellas están las células G secretoras de gastrina.

5.2.1. Secreción de ácido

Las células parietales de las glándulas fúndicas secretan un fluido muy rico en ácido clorhídrico. Tras una estimulación adecuada estas células secretan hasta 160 mEq/l de H^+, junto con Cl^-, formando una solución casi isotónica con pequeñas cantidades de Na^+ y K^+.

5.2.1.1. Mecanismo de secreción de ácido

Las reacciones que se producen en la célula parietal comienzan con la formación de H^+ y HCO_3^- a partir de CO_2 metabólico o sanguíneo y H_2O, con intervención de la anhidrasa carbónica. Los H^+ son transportados a la luz de la glándula, y posteriormente al lumen gástrico, a través de la actuación de una ATPasa-H^+-K^+ de la membrana del canalículo celular, que introduce K^+ al interior de forma estequiométrica (1:1). El HCO_3^- es transportado hacia la sangre. El Cl^- entra de la sangre a la célula intercambiándose con el HCO_3^-.

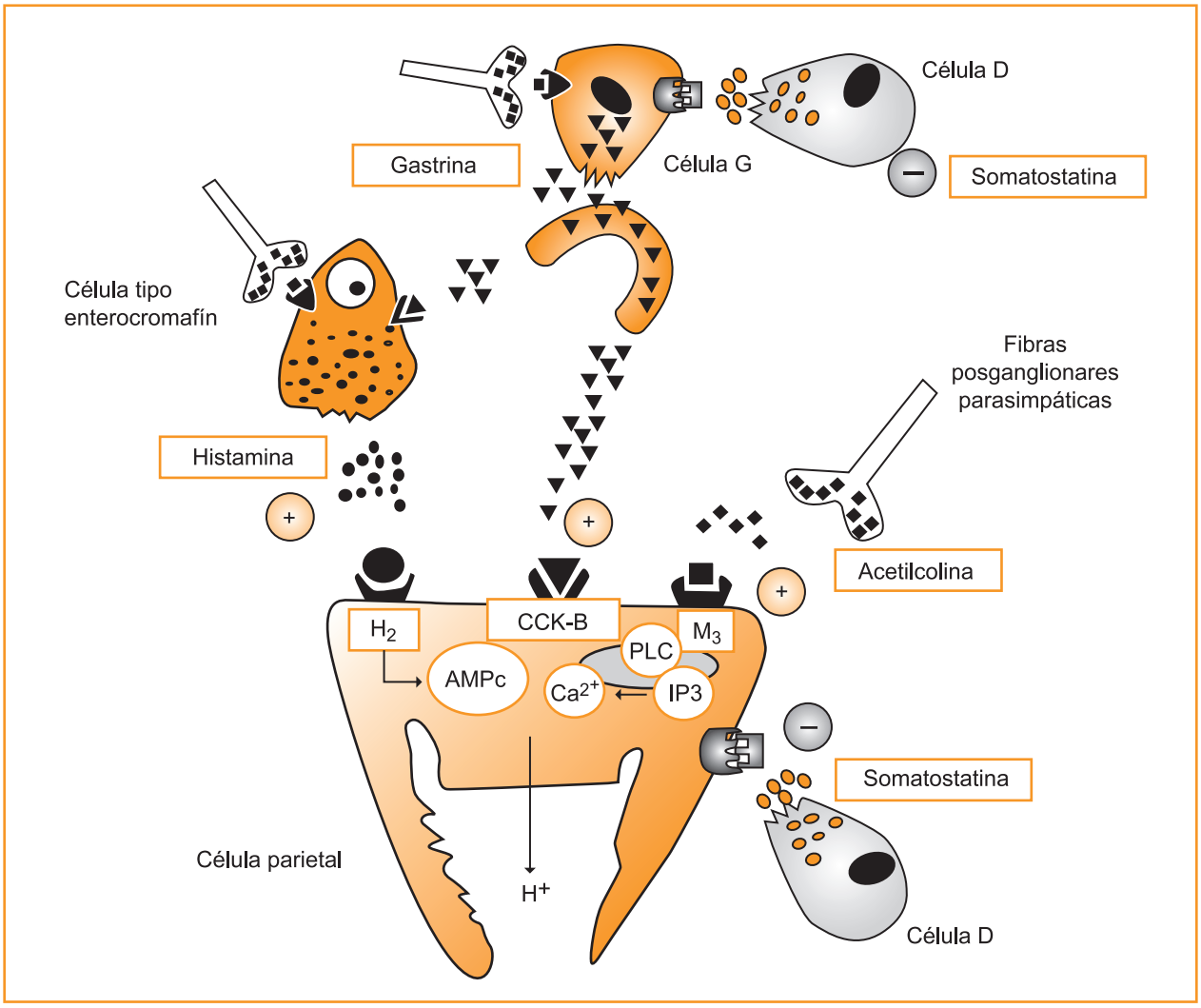


Figura 11. *Regulación de la secreción de ácido gástrico por las células parietales de la mucosa gástrica.*

Posteriormente, el Cl^- es transportado a la luz del canalículo a través de un canal específico y gracias al transporte activo de H^+, ya que se mueve en contra de un gradiente electroquímico. La energía de la ATPasa-Na^+-K^+ del borde basolateral mantiene altas concentraciones de K^+ intracelular que sale a la luz y se intercambia con los H^+ **(Figura 10)**.

5.2.1.2. Regulación de la secreción de ácido

Las células parietales responden a una serie de sustancias incrementando la secreción de ácido hacia el lumen gástrico. Los principales secretagogos de ácido son la acetilcolina (Ach), liberada por las terminaciones nerviosas parasimpáticas que inervan estas células, la gastrina secretada por las células G de la mucosa antral y la histamina secretada por células tipo enterocromafín de la propia mucosa del estómago. Las células parietales tienen receptores de membrana para estas tres sustancias.

La actuación conjunta de ellas produce un fenómeno de potenciación que se traduce en que pequeñas cantidades de cada una pueden dar una respuesta biológica muy potente, en este caso la secreción de ácido. Recientemente se ha confirmado que la presencia de histamina es imprescindible para los fenómenos de potenciación de la gastrina y Ach **(Figura 11)**.

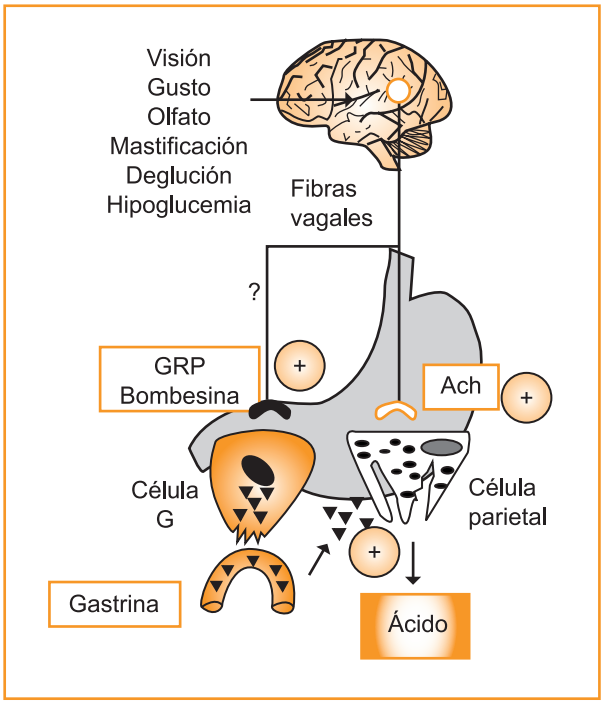


Figura 12 A. *Fase cefálica de la secreción de ácido gástrico en respuesta a la comida.*

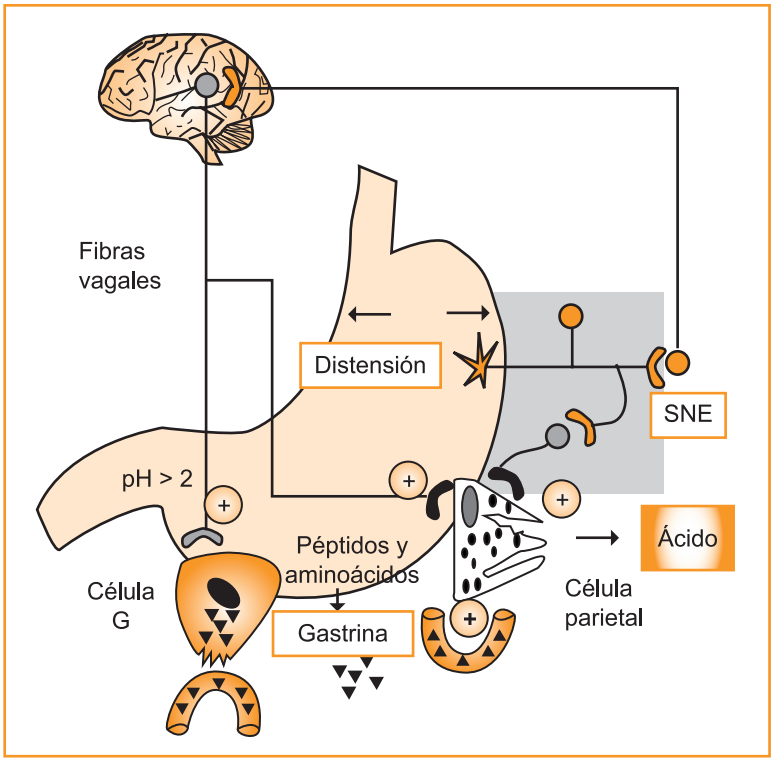


Figura 12 B. *Fase gástrica de la secreción de ácido gástrico en respuesta a la comida. .*

Existe una interrelación entre estos tres secretagogos, ya que la Ach y la gastrina estimulan la liberación de histamina. A su vez, la Ach también libera gastrina.

Se ha descrito un péptido duodenal, la enteroxintina, que estimula la secreción de ácido por las células parietales.

5.2.1.3. Secreción de ácido en respuesta a la ingestión de alimento

En ayunas existe una secreción basal de ácido gástrico que sufre oscilaciones a lo largo del nictámero, con un máximo durante la tarde-noche y un mínimo a primera hora de la mañana. Este jugo gástrico tiene un pH inferior a 2.

La estimulación de la secreción ácida gástrica por la ingestión de alimento puede dividirse, con fines didácticos, en tres fases, en función de la localización de los receptores que inician la respuesta, fase cefálica, gástrica e intestinal. Estas tres fases en un momento determinado se superponen.

La **fase cefálica** **(Figura 12 A)** se inicia con la visión, el olor y el gusto del alimento durante su ingestión, masticación y deglución. La magnitud de la respuesta secretora depende, en gran medida, de la naturaleza del alimento ingerido, siendo mayor cuanto mayor es la palatabilidad de la comida ingerida. Esta fase es mediada por la activación de fibras vagales que bien actúan directamente sobre las células parietales (fibras colinérgicas) o indirectamente liberando gastrina a través de fibras peptidergicas cuyo neurotransmisor es el péptido liberador de gastrina (GRP) o bombesina. En el hombre el mecanismo colinérgico directo es mucho más importante. Esta fase representa el 30% de la respuesta total de ácido a la comida.

La **fase gástrica** **(Figura 12 B)** comienza con la llegada del alimento al estómago y constituye el 50% de la respuesta total. En este momento, el contenido del bolo en sustancias tampón (especialmente proteínas) eleva el pH luminal hasta valores cercanos a 6 o superiores. En situación basal, cuando el pH es inferior a 2

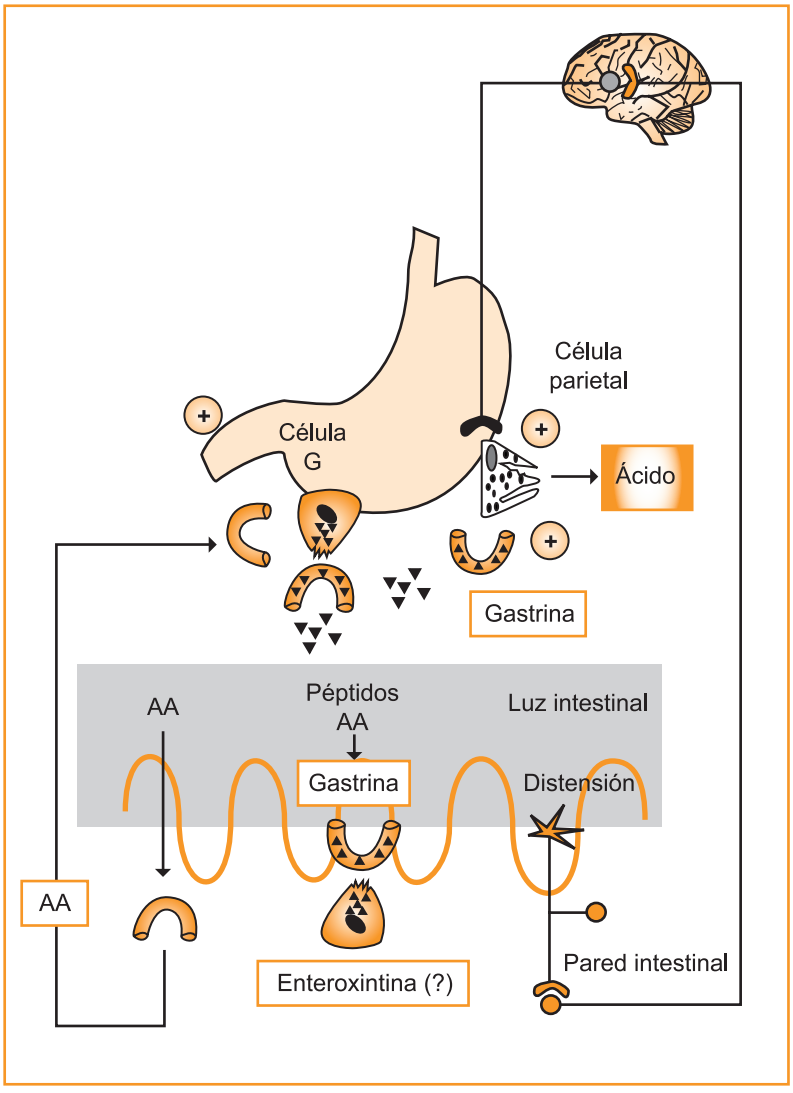


Figura 12 C. *Fase intestinal de la secreción de ácido gástrico en respuesta a la comida.*

está inhibida la secreción de gastrina. Por tanto, al aumentar el pH los impulsos vagales comienzan a liberar gastrina, que estimula la secreción de ácido por las células parietales.

Por otro lado, la distensión gástrica y la presencia de productos de la digestión de las proteínas (péptidos y aminoácidos) también estimulan la secreción de ácido. La distensión actúa a través de reflejos cortos y largos (vagovagales) iniciados por estimulación de mecanorreceptores de la pared del estómago. Los efectores implicados son tanto células parietales como células G que liberan gastrina. Los aminoácidos (en especial los aromáticos) y péptidos liberan gastrina por actuación directa sobre las células G. Existen otras sustancias que liberan ácido y que están presentes en la dieta, como la cafeína, que estimula las células G.

La **fase intestinal** (Figura 12 C) está mediada por la presencia de productos de la digestión de las proteínas que liberan gastrina tanto del antro como de células de la pared duodenal. Los aminoácidos, una vez absorbidos, también liberan gastrina. Esta fase sólo supone un 5% de la respuesta global.

Los mecanismos implicados en la **inhibición de la secreción de ácido** (Figura 13) son importantes, ya que su alteración puede implicarse en la aparición de la enfermedad ácida péptica. El pH ácido luminal (< de 3) inhibe las células parietales, estimulando la liberación de somatostatina por las células D vía paracrina. La presencia de ácido, soluciones hipertónicas o productos de la digestión de lípidos en duodeno liberan una serie de hormonas calificadas en general como **enterogastronas**, entre las que se encuentra la secretina y el GIP que inhiben la secreción de ácido bien directamente actuando sobre las células parietales o inhibiendo la liberación de gastrina por las células G del antro.

La liberación por las células parietales de **factor intrínseco**, una glicoproteína necesaria para la absorción de vitamina B_{12}, está controlada por los mismos factores que liberan ácido.

5.2.2. Secreción de pepsinógenos

Los pépsinógenos, precursores de las pepsinas, enzimas proteolíticas (endopeptidasas), son liberados por las células principales o pépticas. Existen dos familias, la I, secretada por las glándulas fúndicas, y la II, secretada por las glándulas pilóricas. Su activación es por ácido gastrico y posteriormente por autocatálisis de la propia pepsina formada.

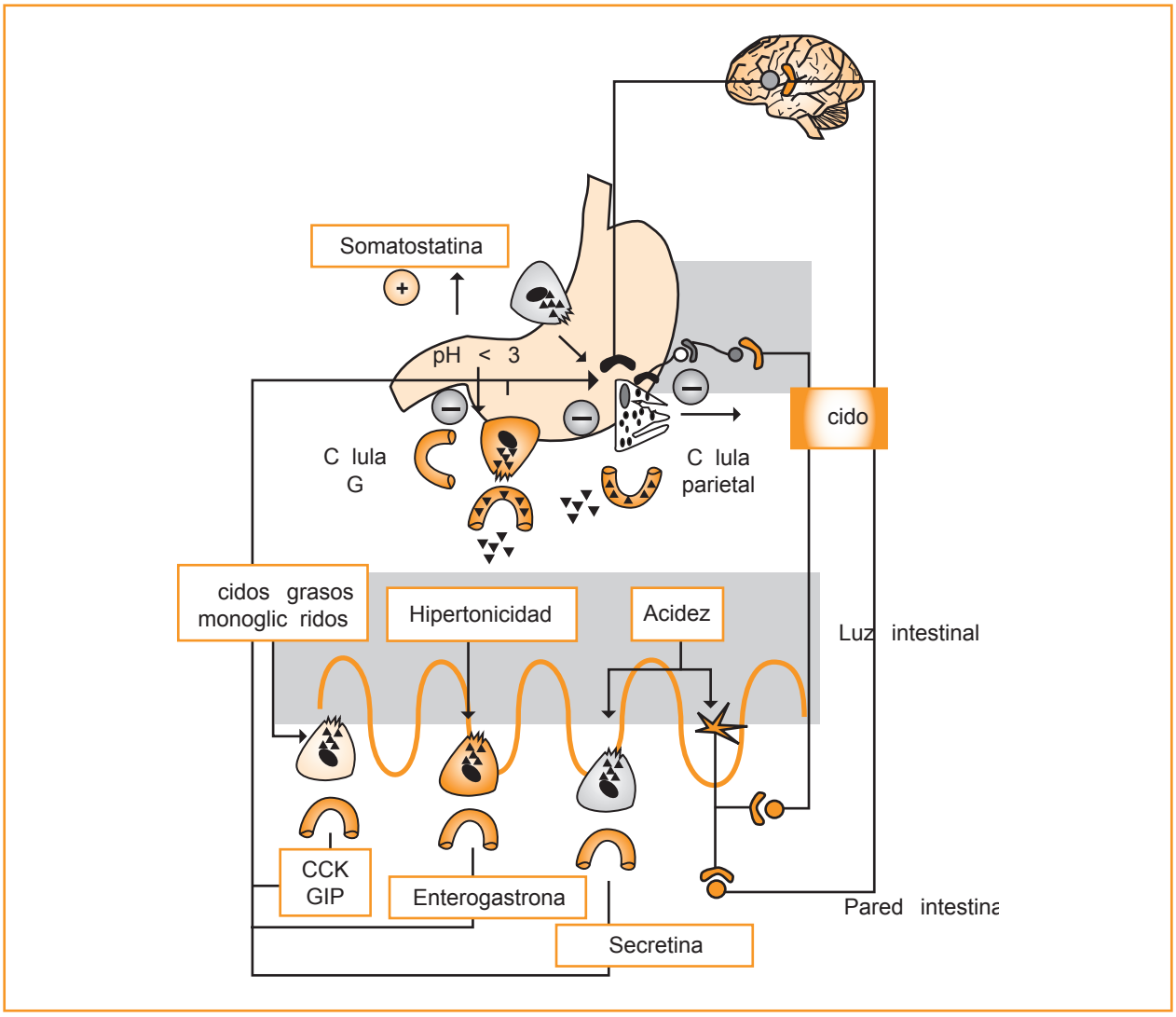


Figura 13. *Mecanismos de inhibición de la secreción de ácido gástrico. CCK: colecistokinina; GIP: péptido gastrointestinal.*

La Ach es el principal secretagogo para la secreción de pepsinógeno. Su liberación se produce tras la estimulación vagal en las fases cefálica y gástrica. La secreción de ácido es importante en la secreción de pepsinógeno, iniciando reflejos colinérgicos que actúan sobre las células principales y las sensibiliza frente a la actuación de otros secretagogos, lo que determina una estrecha correlación entre ambas secreciones.

5.2.3. Secreción de mucus

La secreción de mucus soluble por las células mucosas del cuello de las glándulas gástricas es estimulada por actividad vagal colinérgica. La secreción de mucus visible o insoluble se produce por estímulos luminales, tanto mecánicos como químicos, que actúan directamente sobre las células secretoras. Este gel atrapa la secreción alcalina (rica en HCO_3^-) de las células epiteliales de la superficie mucosal.

Durante los periodos interdigestivos, el conjunto mucus insoluble y secreción alcalina forman una barrera que protege la mucosa frente a estímulos luminales mecánicos y químicos (ácido y pepsina). Esta barrera neutraliza el ácido luminal, enlenteciendo su difusión a través de ella, al igual que el de pepsina, evitando su llegada a las células mucosales.

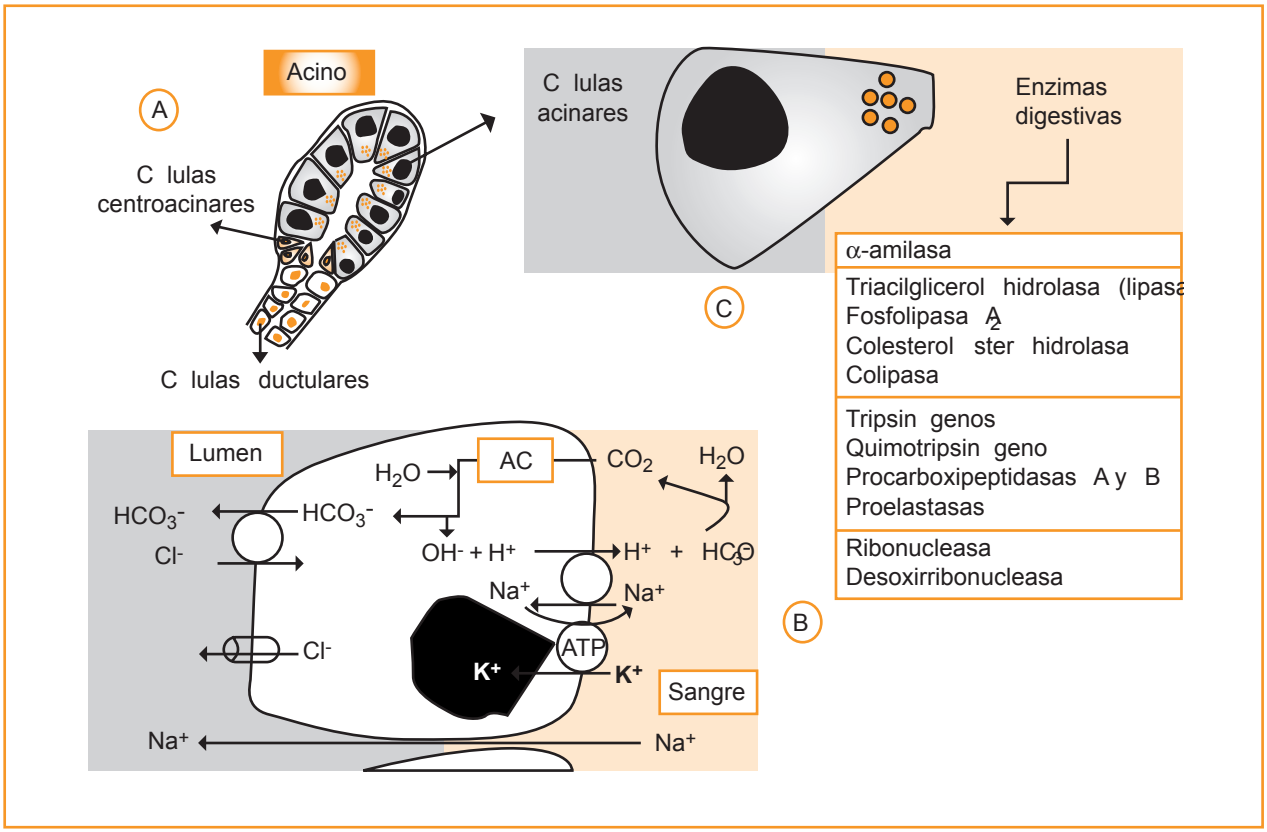


Figura 14. *Estructura y función del páncreas exocrino. A: acino pancreático; B: células ductulares y centroacinares y mecanismo de secreción de bicarbonato; C: células acinares y enzimas pancreáticas; AC: anhidrasa carbónica.*

5.3. Secreción pancreática

El páncreas es una glándula mixta compuesta por tejido exocrino (acinos pancreáticos) y endocrino (islotes de Langerhan). La parte exocrina, mayoritaria en la glándula, secreta el **jugo pancreático**, que es vertido al duodeno. Esta secreción isotónica es rica en bicarbonato y enzimas hidrolíticas. Ambos componentes intervienen de forma decisiva en la digestión intestinal de los alimentos. Las células endocrinas de los islotes secretan hormonas implicadas en el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos y proteínas (insulina y glucagón) y en la regulación de distintas funciones del sistema gastrointestinal y del propio páncreas endocrino (somatostatina y PP).

El tejido exocrino del páncreas tiene como unidad funcional el acino pancreático (al igual que las glándulas salivales, el acino salival). En el acino existen distintos tipos celulares responsables de la secreción de los componentes del jugo pancrático. Así, están las células acinares que secreta el componente enzimático **(Figura 14, A)** y las células centroacinares **(Figura 14, A)** y ductulares que secretan fluido y electrólitos (principalmente HCO_3^- junto con Na^+, K^+ y Cl^-), al que se le denomina componente hidroelectrolítico.

La inervación del páncreas corre a cargo de las divisiones parasimpática (vagal) y simpática (celiaca y mesentérica) del SNA. También se han descrito fibras procedentes de los plexos del SNE y que participan en los reflejos gastropancreáticos y enteropancreáticos.

5.3.1. Mecanismos de secreción de los componentes del jugo pancreático

Las células ductulares y centroacinares secretan gran cantidad de fluido rico en HCO_3^- (120-140 mEq/l). Los mecanismos implicados en la secreción de este anión no son bien conocidos. La formación de HCO_3^- se produce a partir del CO_2 de la

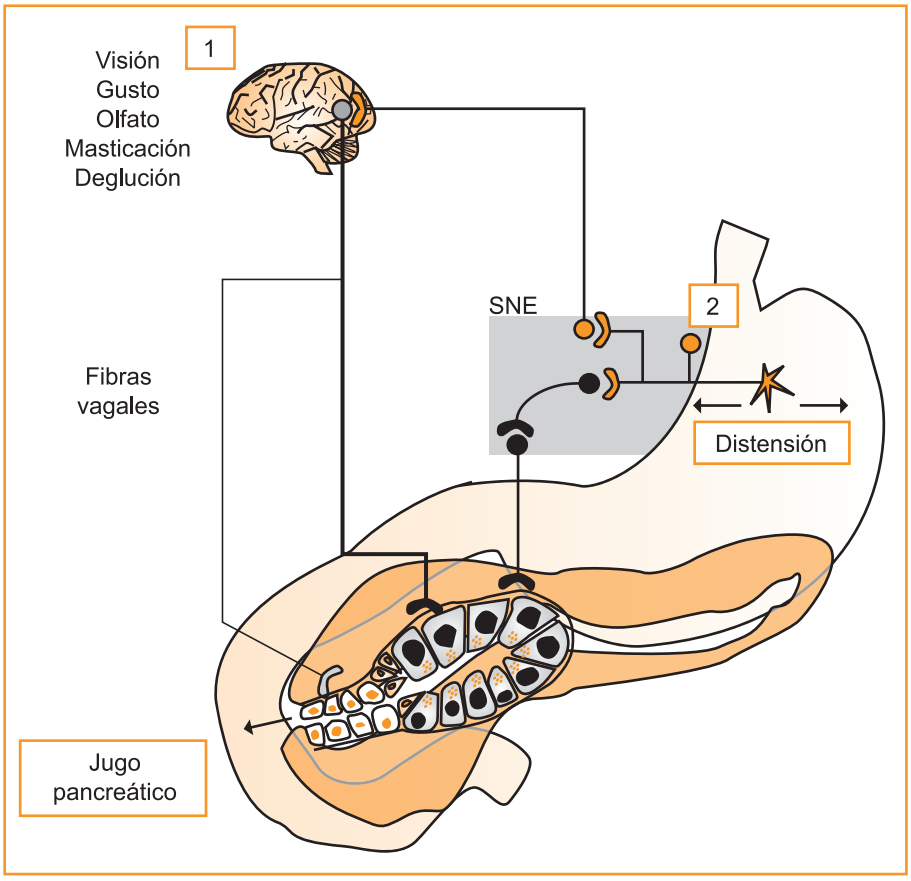


Figura 15 A. *Fases cefálica (1) y gástrica (2) de la secreción de jugo pancreático en respuesta a la comida. SNE: sistema nervioso entérico.*

sangre y el agua intracelular, con la participación de la anhidrasa carbónica. En esta reacción se forman H^+ que pasan al torrente sanguíneo acoplados con el transporte activo de Na^+ mediado por una ATPasa-Na^+-K^+ dependiente. El bicarbonato traspasa la membrana apical y entra a la luz acinar o ductular, intercambiándose con Cl^-. El agua se mueve de forma pasiva a través de las células a favor de un gradiente osmótico por el transporte de Na^+ y HCO_3^-. Esta teoría, debatida en la actualidad, ha dado paso a otras que postulan el transporte de HCO_3^- desde la sangre a través de un cotransportador HCO_3^--Na^+ y no como CO_2, entrando a la luz acinar por un canal de membrana específico **(Figura 14, B)**.

La fracción enzimática del jugo pancreático es secretada por las células acinares que lo sintetizan. Tras su síntesis, son empaquetados en gránulos de zimógeno, que, tras el estímulo adecuado, migran hacia la membrana apical con la participación del citoesqueleto, donde son liberados por exocitosis junto con una pequeña cantidad de fluido. Existe otra vía de secreción en la que no intervienen los gránulos de zimogeno. Las enzimas presentes en el jugo pancreático se recogen en la **Figura 14, C**. Entre ellas, se incluyen proteasas, lipasas, amilasa y nucleasas.

5.3.2. Regulación de la secreción de jugo pancreático

Los dos componentes del jugo pancreático tienen unas funciones claras en el proceso digestivo que son: neutralizar el contenido ácido que llega del estómago al duodeno e hidrolizar los componentes de los alimentos para obtener otros que puedan atravesar el epitelio mucosal. La neutralización del quimo ácido es un paso previo imprescindible para la actuación de las enzimas pancreáticas, cuyo pH óptimo está cercano a la neutralidad.

Es lógico pensar, teniendo en cuenta lo expuesto, que los factores que determinan la secreción del jugo pancreático deben estar relacionados con la presencia de ácido y nutrientes (y otros componentes alimentarios) en la luz duodenal. También están implicados mecanismos nerviosos tanto intrínsecos como extrínsecos.

Al igual que en la secreción gástrica, la regulación de la secreción pancreática en respuesta a la comida puede estructurarse en tres fases: cefálica, gástrica e intestinal.

La **fase cefálica (Figura 15 A)** está mediada por reflejos nerviosos vagovagales colinérgicos que se inician en receptores gustativos, olfativos, mecánicos y químicos durante la ingestión, masticación y deglución del alimento. Aunque las fibras vagales inervan las células centroacinares y acinares, la Ach tiene un efecto mayor sobre la fracción enzimática

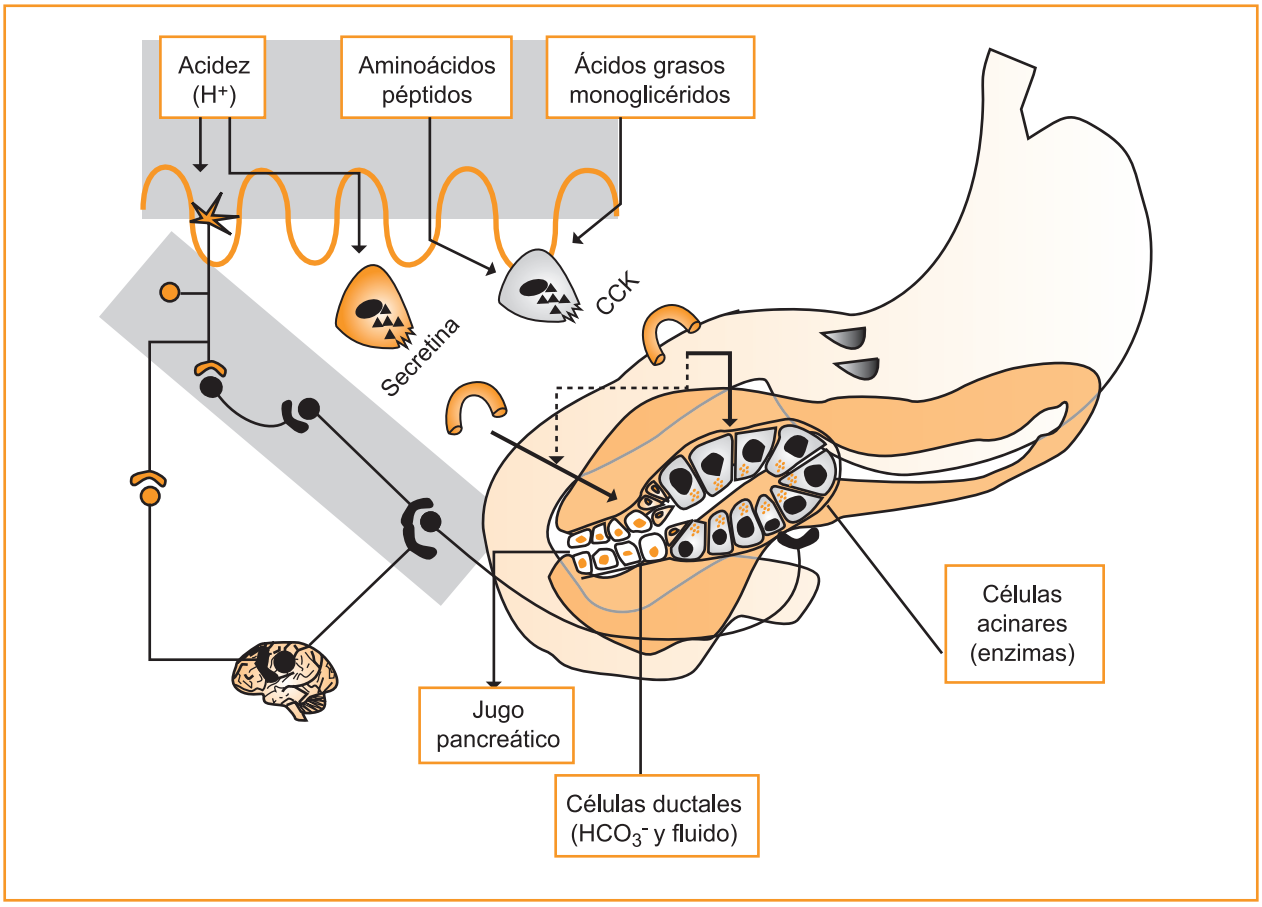


Figura 15 B. *Fase intestinal de la secreción de jugo pancreático en respuesta a la comida. CCK: colecistokinina.*

que sobre la hidroelectrolítica, por lo que el jugo secretado en esta fase es rico en enzimas. Supone un 15% de la respuesta total.

La **fase gástrica** **(Figura 15 A)**, que supone sólo un 5-10% de la respuesta total, está iniciada por estímulos mecánicos de distensión del estómago que disparan reflejos vagovagales (extrínsecos) y gastropancreáticos (intrínsecos) que secretan un jugo de composición semejante a la descrita en la fase cefálica.

La **fase intestinal** es la más importante y supone entre el 75 y el 80% de la respuesta total. En ella intervienen mecanismos reflejos nerviosos (vagovagales y enteropancreáticos) que liberan Ach, secretando un jugo rico en enzimas y mecanismos hormonales que implican, de forma mayoritaria, dos hormonas, la secretina y la CCK. La secretina es liberada por las células S duodeno-yeyunales por la presencia de ácido en la luz duodenal, con un pH umbral de 3,5. La cantidad de secretina liberada depende del área de superficie duodeno-yeyunal estimulada por el ácido. También es liberada por la presencia en la luz de ácidos grasos de cadena larga. Esta hormona estimula, de forma selectiva, el componente hidroelectrolítico del jugo pancreático **(Figura 15 B)**.

La presencia de productos de la digestión de las proteínas (aminoácidos, como fenilalanina, metionina y valina y oligopéptidos) y de lípidos (ácidos grasos y monoglicéridos) libera de las células I de la mucosa intestinal CCK. Esta hormona actúa estimulando, de forma potente, la fracción enzimática del jugo pancreático, ejerciendo escaso efecto sobre la fracción rica en HCO_3^-. La cantidad de CCK liberada depende del área intestinal estimulada y de la carga de nutrientes presentes en la luz.

Los estudios acerca de los mecanismos celulares de la secreción de jugo pancreático han mostrado que las células del páncreas exocrino que constituyen los acinos tienen receptores para los tres

secretagogos implicados en la respuesta a la comida, secretina, CCK y Ach. Esta característica nos permite hablar de potenciación entre secretagogos, en especial entre CCK y secretina, aunque también se han descrito entre Ach y secretina. Entre CCK y Ach sólo hay efectos aditivos.

Existen distintos mecanismos implicados en la inhibición de la secreción de jugo pancreático. Dentro de los mecanismos nerviosos la estimulación de fibras simpáticas inhibe la secreción. La somatostatina, por vía paracrina, también inhibe la secreción pancreática. Existen dos péptidos, uno liberado por los islotes pancreáticos (PP) y otro por la mucosa intestinal (especialmente íleon y colon), el PYY, que tras su liberación por productos de la digestión de proteínas y grasas y otros componentes luminales inhibe la secreción de jugo pancreático.

En respuesta a la comida, la secreción pancreática exocrina se adapta a la dieta modificando su contenido en las distintas enzimas, en función de la cantidad de sustratos presentes en la dieta. Esta adaptación es mediada por distintas hormonas como la CCK (proteasas y amilasa), secretina y GIP (lipasa) e insulina (amilasa), que actúan sobre la expresión de los genes para estas enzimas.

5.4. Secreción biliar

Además de las importantes funciones del hígado en el metabolismo corporal, síntesis de moléculas de importancia para distintas funciones y su papel en la detoxificación y la excreción de productos endógenos y xenobióticos, el hígado actúa como glándula aneja al tubo digestivo secretando a su luz la bilis con una clara función en los procesos de digestión y absorción de las grasas de la dieta y las vitaminas liposolubles (ácidos biliares). La bilis también sirve a funciones de excreción (pigmentos biliares, colesterol, fármacos, etc.).

5.4.1. Composición de la bilis

La bilis es una solución acuosa con dos componentes: uno inorgánico constituido por electrólitos de forma mayoritaria (Na^+, K^+, Cl^- y HCO_3^-) y otros minerales (Ca^{2+}), y un componente orgánico que lo forman los ácidos biliares (65%), fosfolípidos (lecitinas) (20%), colesterol (4%), proteínas (5%) y pigmentos biliares (0,3%), mayoritariamente bilirrubina. Además, existen otros componentes minoritarios (enzimas, fármacos, etc.)

Su función digestiva la ejercen los **ácidos biliares**. Son sintetizados en el hepatocito a partir del colesterol y, además de caracterizarse por su función en la digestión, constituyen la principal vía de excreción de núcleos de colesterol del organismo. El hígado sintetiza dos ácidos biliares, el ácido cólico (con 3 grupos OH) y el ácido quenodeoxicólico (con 2 grupos OH), son los llamados **ácidos biliares primarios**. Éstos son secretados hacia la luz intestinal, donde son modificados por la flora bacteriana (deshidroxilación en posición 7) y transformados en otros dos **ácidos biliares secundarios**: el deoxicólico y el litocólico di y monohidroxilados, respectivamente.

La estructura química y la distribución tridimensional de los distintos radicales de su molécula hacen que los ácidos biliares se comporten como moléculas anfipáticas, con dos dominios diferenciados, uno hidrófobo y otro hidrófilo. Esta propiedad es la responsable de que, por encima de ciertas concentraciones **(concentración micelar crítica)**, forme agregados moleculares, las **micelas**. La función de las micelas es mantener los otros lípidos biliares en solución, especialmente el colesterol (micelas mixtas de ácidos biliares, colesterol y fosfolípidos). Normalmente los ácidos biliares están conjugados con dos aminoácidos, taurina y glicina, y en el pH de la bilis están en forma aniónica formando sales de Na^+ mayoritariamente, por lo que se les denomina también **sales biliares**.

5.4.2. Mecanismos de secreción de la bilis

La bilis es secretada al canalículo biliar a través del polo apical (o biliar) del hepatocito. Posteriormente se dirige, por los conductillos biliares intrahepáticos, al árbol biliar extrahepático, y a través del conducto biliar común llega al duodeno. Durante los periodos interdigestivos, gran parte de la bilis secretada se almacena en la vesícula biliar, que es vaciada al intestino tras la ingestión de alimento.

El volumen final de bilis que llega al duodeno está formado por tres fracciones, dos de ellas canaliculares, las fracciones dependiente e indepen-

diente de ácidos biliares, y una ductular independiente de ácidos biliares **(Figura 16)**.

La fracción canalicular dependiente de ácidos biliares se forma por el transporte activo de estos aniones orgánicos, sintetizados o captados de la sangre portal por el hepatocito, hacia la luz del canalículo. Su presencia en el canalículo establece un gradiente osmótico que determina la entrada de agua y electrólitos hacia él **(Figura 16)**.

La fracción canalicular independiente de los ácidos biliares se debe al transporte activo de electrólitos a la luz canalicular, principalmente de Na^+, aunque pueden intervenir otros iones tanto orgánicos como inorgánicos como glutatión y HCO_3^-, estableciéndose un gradiente osmótico para el paso de agua y otros electrólitos **(Figura 16)**.

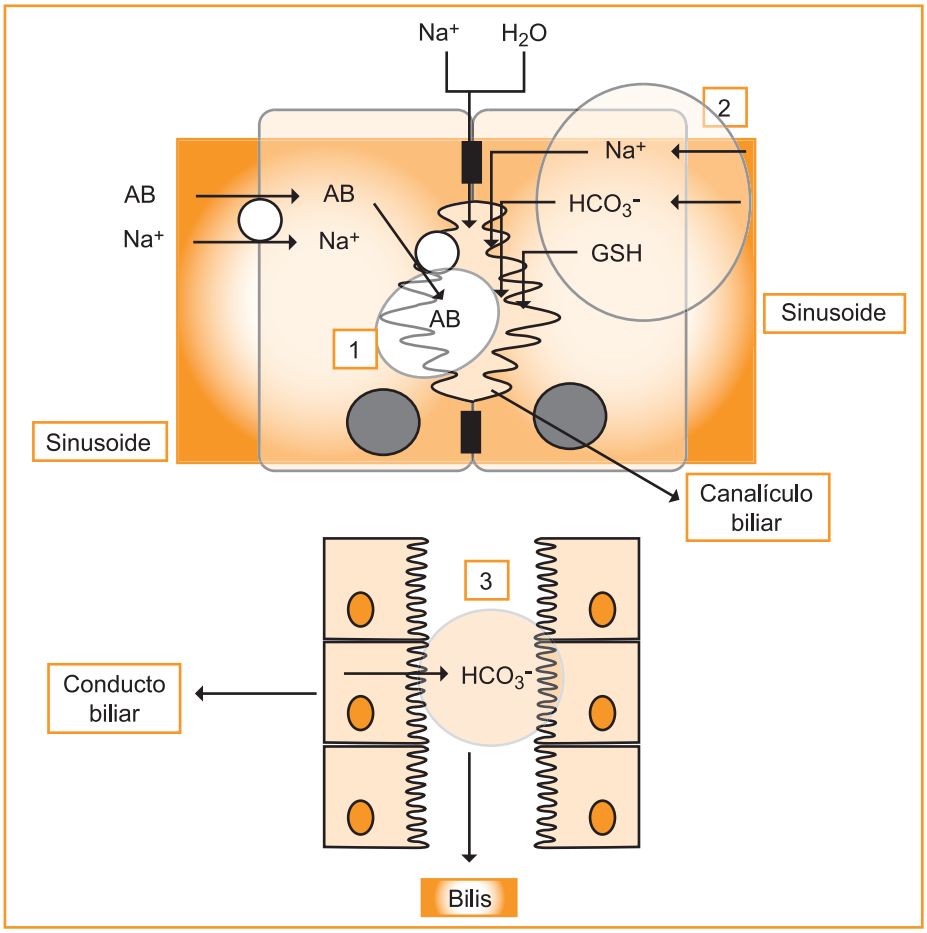


Figura 16. *Mecanismos de secreción de bilis. 1: fracción canalicular dependiente de ácidos biliares; 2: fracción canalicular independiente de ácidos biliares; 3: fracción ductular independiente de ácidos biliares; AB: ácidos biliares; GSH: glutatión.*

La fracción ductular independiente de ácidos biliares es formada en las células de los conductillos biliares por secreción activa de HCO_3^-. Ésta es estimulada específicamente por secretina liberada en respuesta a la comida. Los ácidos biliares secretados al canalículo, al llegar a su concentración micelar crítica, forman micelas que solubilizan los dominios ricos en fosfolípidos y colesterol de la membrana apical del hepatocito, entrando ambos lípidos en la bilis.

Los desequilibrios en los lípidos biliares que impliquen una disminución de ácidos biliares y fosfolípidos y/o un aumento en el contenido en colesterol pueden hacer que este último precipite y ante diferentes agentes desencadenantes forme cálculos biliares. La formación de estos cálculos es más frecuente en la vesícula biliar.

5.4.3. Regulación de la secreción biliar

La secreción hepática de bilis depende, en gran medida, de la secreción de ácidos biliares. Los ácidos biliares contenidos en ella, tras ser secretados al canalículo, siguen por el sistema de conductos intra y extrahepáticos y son en parte almacenados en la vesícula biliar en periodos interdigestivos, pasando una pequeña cantidad a duodeno a través del esfínter de Oddi. En los periodos posprandiales se vacía la vesícula y los ácidos biliares llegan en una alta concentración a la luz intestinal, donde ejercen sus funciones en la digestión y absorción de la grasa de la dieta.

Tras su actuación, estos aniones son reabsorbidos casi en su totalidad en íleon y colon proximal mediante mecanismos activos en el primero y pasivos en ambos segmentos. Los ácidos biliares

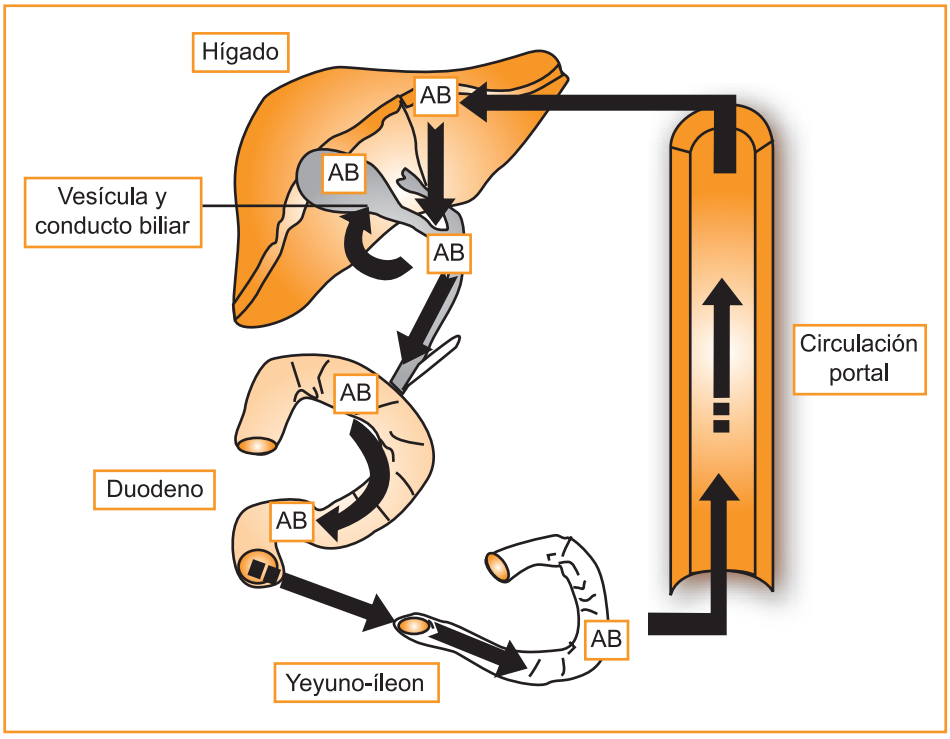


Figura 17. *Circulación enterohepática de ácidos biliares (AB).*

más hidrófilos (con más grupos OH) son transportados por mecanismos activos de la mucosa ileal, mientras que los más hidrófobos (con menos grupos OH) difunden pasivamente a través de la membrana enterocitaria. Vía portal se dirigen, de nuevo, al hígado, donde son captados con una alta eficacia (> 90%) por los hepatocitos a través de sistemas de transporte específicos de su membrana sinusoidal. Posteriormente son secretados al canalículo, estimulando la formación de bilis. Este ciclo se denomina **circulación enterohepática de ácidos biliares (CEH)**, y constituye el principal mecanismo que regula la secreción de bilis hepática **(Figura 17)**.

Existen otros mecanismos nerviosos y hormonales, además de la CHE, que afectan al volumen de bilis que llega al duodeno tras la ingestión del alimento y que se estudiarán a continuación.

5.4.4. Respuesta biliar a la comida

Durante los periodos interdigestivos, la mayor parte de la bilis se encuentra en la vesícula biliar. Este divertículo tiene la función de almacenar temporalmente la bilis y concentrarla. Esta última función la realiza gracias a las propiedades del epitelio de su pared, que absorbe electrólitos (Na^+, Cl^- y HCO_3^-), creando un gradiente osmótico que mueve el agua hasta la sangre. La concentración de ácidos biliares puede ser del orden de 2 a 20 veces.

Tras la ingestión del alimento, la actividad vagal y del SNE que se originan durante las fases cefálica y gástrica de la digestión inician contracciones intermitentes de la vesícula y relajaciones simultáneas del esfínter de Oddi que van drenando bilis hacia duodeno.

Durante la fase intestinal, la presencia de ácido y productos de la digestión de proteínas, y sobre todo de las grasas, en el duodeno, inducen un aumento en la secreción hepática de bilis (efecto colerético) y una contracción vesicular que drena gran cantidad de bilis hacia la luz intestinal (efecto colagogo) **(Figura 18)**. La acidez luminal libera secretina que estimula, por vía endocrina, la fracción ductular de bilis rica en HCO_3^-. Los productos de la digestión de grasas y proteínas liberan CCK con un potente efecto contráctil sobre la vesícula biliar, induciendo su vaciamiento, y un efecto relajante del esfínter de Oddi.

Como consecuencia de lo expuesto, en el momento en el que llega el alimento al duodeno, se produce la entrada de gran cantidad de bilis con una alta concentración de ácidos biliares. Este hecho favorece la digestión y absorción de los lípidos dietéticos.

Tras su actuación son absorbidos y vuelven al hígado para ser de nuevo secretados, estimulando la secreción hepática de bilis. Durante el periodo posprandial puede haber dos ciclos enterohepáticos completos **(Figura 18)**.

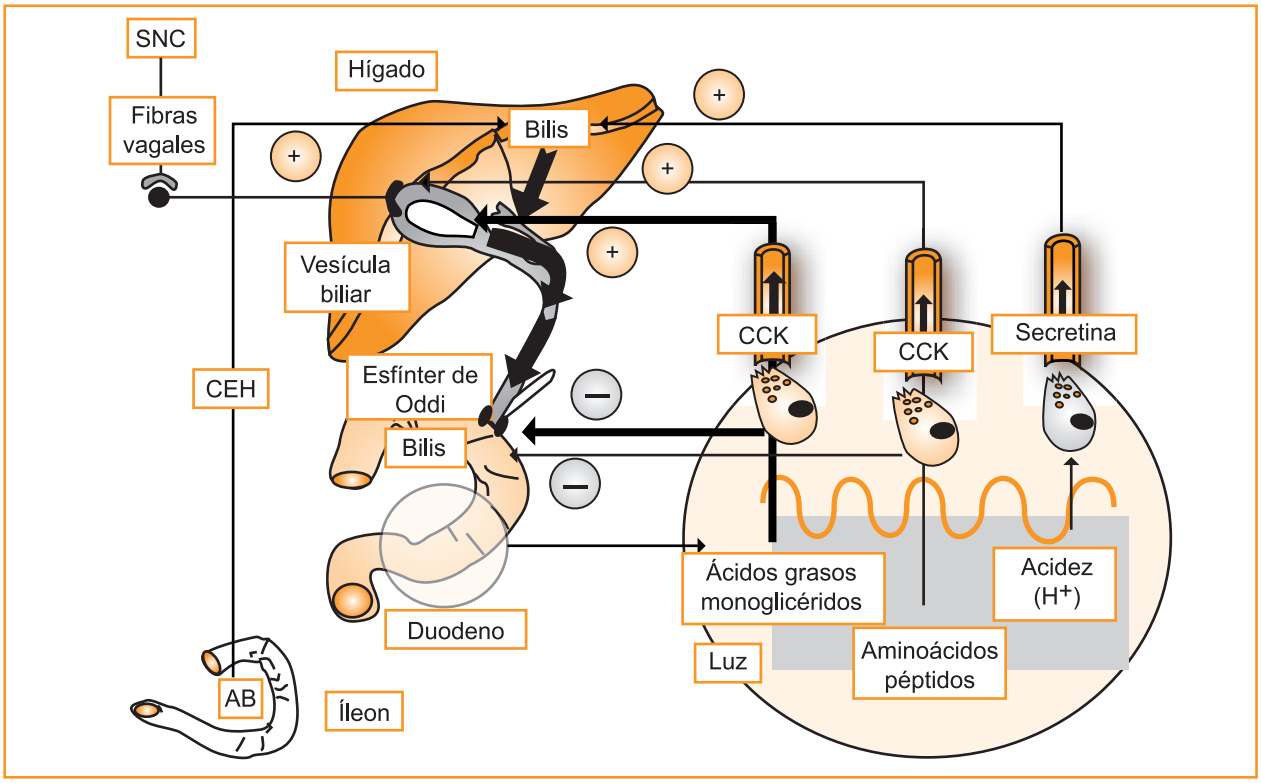


Figura 18. *Regulación de la secreción biliar en respuesta a la comida. CEH: circulación enterohepática de ácidos biliares (AB). CCK: colecistokinina; SNC: sistema nervioso central.*

5.5. Secreciones intestinales

Las secreciones del intestino delgado y grueso contienen, fundamentalmente, mucus, electrólitos y agua. En el intestino delgado proximal son glándulas submucosas y las células mucosas del epitelio las responsables de una secreción rica en mucus con función protectora de la mucosa frente a agresiones mecánicas del contenido luminal. También se produce una secreción acuosa con un contenido en electrólitos semejante al plasma. En el intestino grueso (colon) la secreción es menor que en el delgado, pero más rica en mucus secretado por células mucosas epiteliales y con gran contenido en K^+ y HCO_3^-. Existen influencias nerviosas extrínsecas y estímulos mecánicos luminales que estimulan la secreción del colon.

6. Digestión y absorción

Las funciones de motilidad y secreción del sistema gastrointestinal están reguladas para permitir una digestión y absorción óptima de los nutrientes presentes en los alimentos ingeridos.

6.1. Aspectos anátomo-funcionales

Los procesos de digestión y absorción se llevan a cabo mayoritariamente en el intestino delgado. Este segmento intestinal tiene una serie de estructuras especializadas que facilitan ambos procesos.

La principal característica de la mucosa intestinal es el extraordinario incremento en la superficie disponible para las últimas etapas de la digestión y absorción de los componentes alimentarios. Las especializaciones estructurales responsables de este aumento de superficie son los pliegues mucosales (de Kerkring), las vellosidades de la mucosa y las microvellosidades del polo apical de las células del epitelio mucosal (enterocitos) **(Figura 19)**.

Los enterocitos, debido al continuo desgaste mecánico y químico por acción del contenido luminal, tienen una vida media corta que oscila

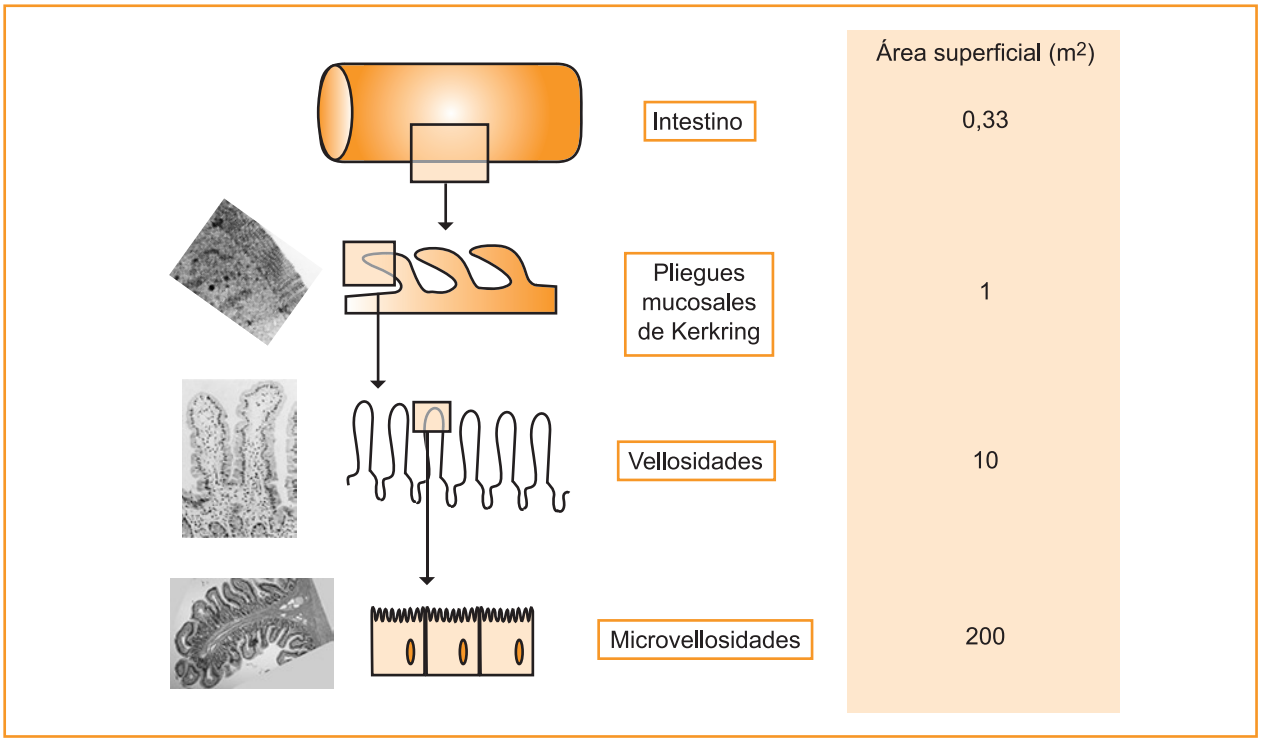


Figura 19. *Esquema de las estructuras que participan en el incremento de la superficie intestinal para optimizar la digestión y absorción de los nutrientes.*

entre 4 y 6 días. Estas células son renovadas periódicamente a partir de células indiferenciadas (células madre) situadas en la base de las criptas intestinales. Estas células se van diferenciando y emigran hacia el vértice de la vellosidad, donde adquieren sus características secretoras, digestivas y absortivas.

La proliferación, diferenciación y maduración del epitelio mucosal tienen una regulación compleja en la que están implicadas hormonas gastrointestinales (gastrina, CCK, grelina) como otras hormonas (hormona de crecimiento), factores de crecimiento y la naturaleza del contenido intestinal. Estos procesos reguladores son fácilmente alterados por el ayuno, la nutrición parenteral total, las radiaciones ionizantes y los agentes quimioterápicos.

6.2. Mecanismos generales de la digestión y absorción

La digestión de los alimentos se puede dividir en mecánica y química (normalmente a este tipo se le aplica el nombre de digestión).

La digestión mecánica se inicia con la masticación en la cavidad oral y continua en el estómago gracias a las potentes contracciones de la zona caudal. Todos ellos permiten la división de alimento hasta convertirlo en partículas de muy pequeño tamaño antes de su vaciamiento hacia el intestino delgado. Esta división mecánica da lugar a un gran aumento en la superficie del alimento, lo que favorece la actuación de las enzimas hidrolíticas y otras sustancias, facilitando la digestión química.

La digestión química la realizan enzimas hidrolíticas presentes en la luz gastrointestinal y en el epitelio mucosal. Éstas son secretadas por distintas glándulas a la luz intestinal, donde ejercen su función **(digestión luminal)**, o bien se asocian a la membrana del polo apical de los enterocitos (borde en cepillo) **(digestión de membrana)**.

Los procesos de digestión comienzan en la cavidad bucal y continúan en el estómago, pero es en el intestino delgado donde adquieren una mayor relevancia, de hecho, las alteraciones en los procesos de digestión sólo aparecen por malfuncionamiento de los mecanismos digestivos y de su regulación en este segmento.

Una vez terminada la digestión, los productos resultantes deben atravesar la barrera intestinal hasta llegar al medio interno, sangre o linfa de los capilares que irrigan las vellosidades intestinales y que se localizan en la lámina propia. Para llegar al torrente sanguíneo o linfático, los productos de la digestión deben atravesar la capa no agitada de líquido en el lumen, el glicocáliz, en estrecho contacto con la membrana apical del enterocito que también debe pasar, el citoplasma enterocitario, la membrana basolateral, el espacio intercelular, la membrana basal y la membrana capilar **(Figura 20)**.

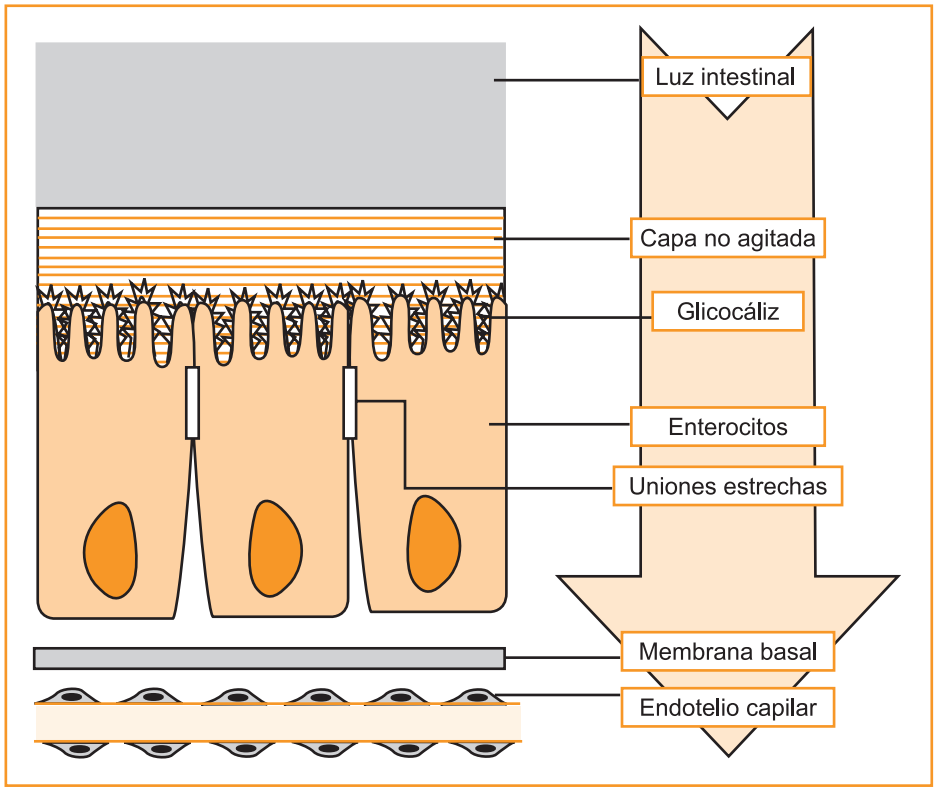


Figura 20. *Esquema de la barrera intestinal.*

El transporte (absorción) de las sustancias luminales hasta el medio interno puede realizarse por diversos mecanismos que se ponen en marcha dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas. Estos mecanismos son **pinocitosis**, **difusión simple** o **facilitada** y **transporte activo**.

En este Capítulo sólo se estudiarán la digestión y absorción de los macronutrientes (hidratos de carbono, lípidos y proteínas) y se expondrán, brevemente, algunos aspectos del balance de fluidos en el tracto gatrointestinal. Algunos aspectos particulares de la absorción de macronutrientes y de micronutrientes se estudiarán en los capítulos correspondientes.

6.3. Digestión y absorción de hidratos de carbono

En la dieta, los hidratos de carbono aparecen, de forma mayoritaria ($\simeq$ 50%), como polisacáridos vegetales (almidones), y el resto, como monosacáridos (glucosa), disacáridos (sacarosa, maltosa, lactosa, trealosa) y polisacáridos animales (glucógeno). También hay polisacáridos vegetales no digestibles (fibra dietética): celulosa, hemicelulosa y pectinas, entre otros.

6.3.1. Digestión

La digestión de los hidratos de carbono se inicia en la boca por la actuación de la amilasa salival (ptialina) tras la insalivación del bolo alimenticio. La actuación de esta enzima permanece hasta la llegada del alimento al estómago, donde se inactiva por el pH ácido. En el intestino delgado actúa la amilasa pancreática, que continúa la digestión del almidón de la dieta. Este polisacárido vegetal está formado por moléculas de glucosa unidas por enlaces α (1,4) (amilosa), dando lugar a una cadena lineal, que se ramifica en ciertos puntos con enlaces α (1,6) (amilopectina). Tanto la amilasa salival como pancreática sólo rompen los enlaces α (1,4) de la molécula de almidón y los productos de su hidrólisis son **glucosa**, **maltosa**, **maltotriosa** y **dextrinas límite**.

Excepto la glucosa, que puede entrar al medio interno sin posteriores modificaciones, los demás

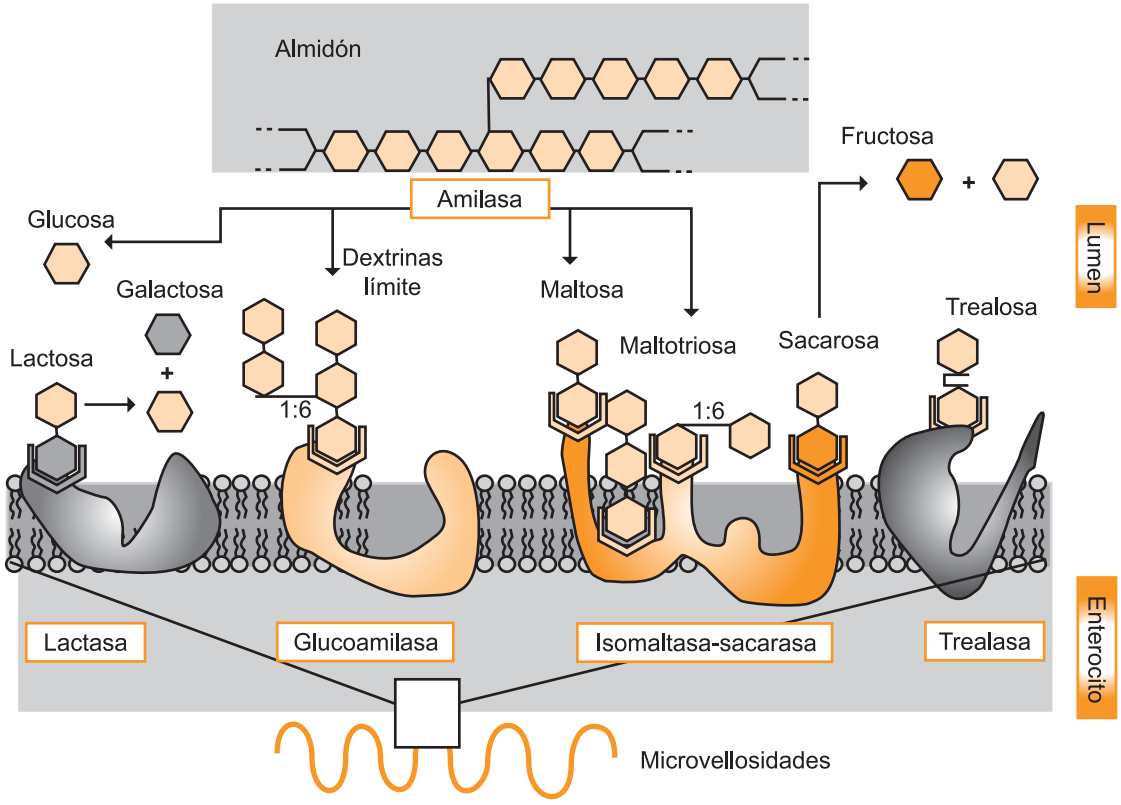


Figura 21 A. *Digestión de los hidratos de carbono de la dieta.*

productos de la hidrólisis deben ser transformados en sus monosacáridos constituyentes gracias a un conjunto de enzimas del borde en cepillo. Las dextrinas límite son hidrolizadas principalmente por una glucoamilasa, aunque la sacarasa (que hidroliza la sacarosa) y la isomaltasa también pueden actuar sobre ellas, aunque sólo sobre los enlaces α (1,6). El enlace α (1,6) es hidrolizado por la isomaltasa (α-dextrinasa). La isomaltasa forma un complejo con la sacarasa. Otras disacaridasas de la membrana microvellositaria son lactasa-β-galactosidasa y trealasa, que hidrolizan la lactosa y trealosa, respectivamente **(Figura 21 A)**.

6.3.2. Absorción

Los mecanismos absortivos del enterocito sólo son capaces de incorporar monosacáridos y en concreto glucosa, galactosa y fructosa. El proceso de absorción de la glucosa y la galactosa es el mismo y diferente del que utiliza la fructosa. La absorción de glucosa y galactosa se realiza por un transporte activo secundario al de Na^+, utilizando una proteína transportadora dependiente de este catión, la SGLUT-1.

El transportador capta, en la cara externa de la membrana, una molécula de glucosa/galactosa y dos de Na^+. La energía para el transporte es suministrada por una ATPasa-Na^+-K^+ dependiente del borde basolateral que mantiene un gradiente de Na^+ entre el exterior y el interior del enterocito **(Figura 21 B)**.

La fructosa entra al enterocito por difusión facilitada por medio de una proteína transportadora presente en la membrana apical (GLUT-5). La salida a través de la membrana basolateral del enterocito es mediada por otro transportador (GLUT-2) también por difusión facilitada, aunque algo de ella pasa por difusión simple. Este mismo mecanismo de salida del enterocito lo utilizan la glucosa y la galactosa **(Figura 21 B)**.

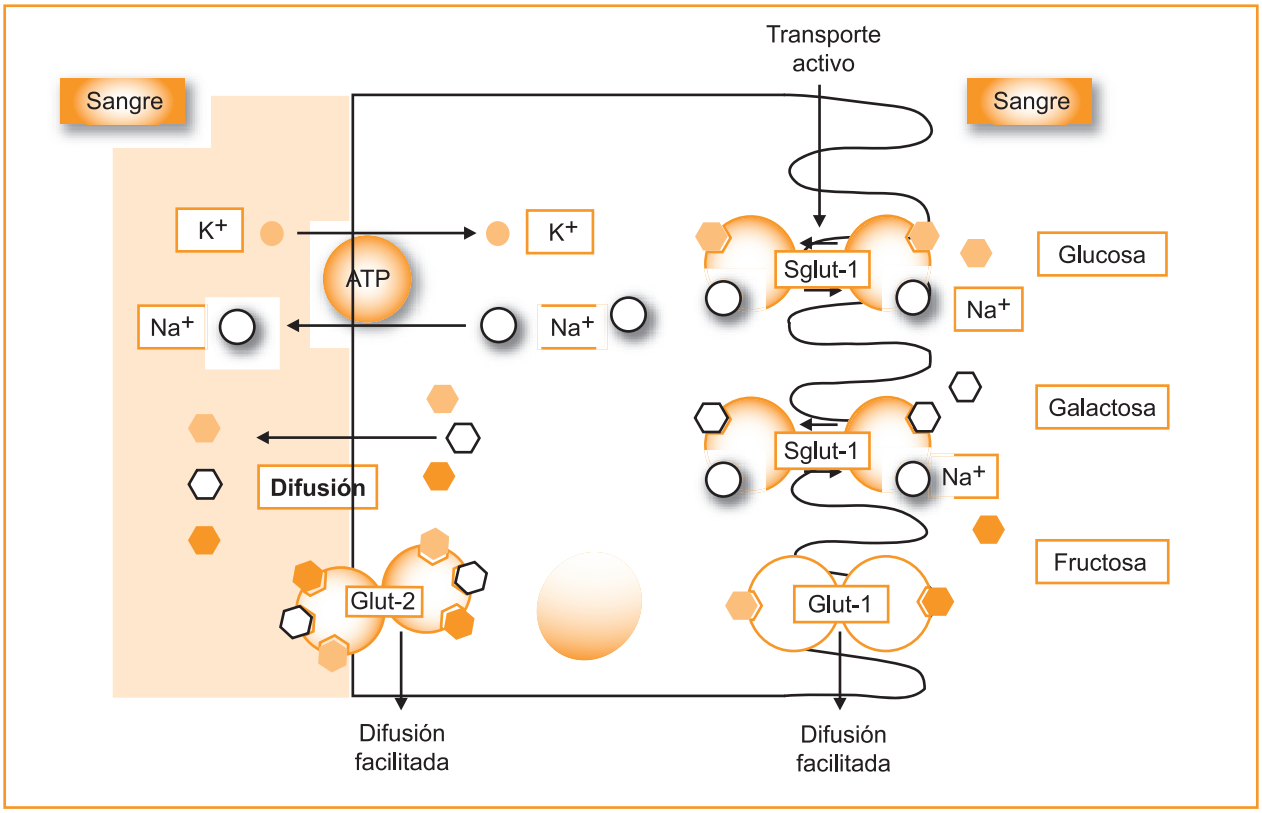


Figura 21 B. *Absorción de los hidratos de carbono de la dieta.*

6.4. Digestión y absorción de las proteínas

6.4.1. Digestión

La pepsina gástrica es la primera enzima que actúa sobre las proteínas de la dieta **(Figura 22)**. Es una endopeptidasa que rompe los enlaces peptídicos entre aminoácidos aromáticos.

Las proteasas pancreáticas **(Figura 22)** que tienen un papel más relevante en la digestión de este nutriente pertenecen a dos grandes grupos, endopeptidasas (tripsina, quimiotripsina y elastasa) y exopeptidasas (carboxipeptidasas A y B). Cada endopeptidasa tiene especificidad por determinadas uniones peptídicas en las que participan determinados aminoácidos, y las exopeptidasas separan residuos aminoacídicos del extremo C-terminal del polipéptido. La activación de todas ellas se debe a la tripsina, que a su vez es activada (a partir del tripsinógeno) por la enterokinasa, una proteasa del borde en cepillo del epitelio duodenal.

Tras la actuación de las diferentes proteasas, los productos de la digestión proteica presentes en el lumen son aminoácidos y oligopéptidos (40:60). Los mecanismos de transporte sólo admiten aminoácidos, di y tripéptidos. Los tetra, penta y hexapéptidos deben ser hidrolizados a aminoácidos o péptidos más pequeños por peptidasas del borde en cepillo **(Figura 22)**.

6.4.2. Absorción

Existen dos sistemas de transporte enterocitarios para la absorción de los productos de la digestión de las proteínas, uno de ellos, localizado en el íleon, es el encargado de transportar aminoácidos y otro, de localización yeyunal, se encarga del transporte de dipéptidos y tripéptidos **(Figura 22)**.

El transportador de di y tripéptidos es único e inespecífico. Tiene alta afinidad por los péptidos de esta longitud y no de cadena más larga y preferencia por L-aminoácidos (estereoespecificidad). El mecanismo utilizado por este transportador es

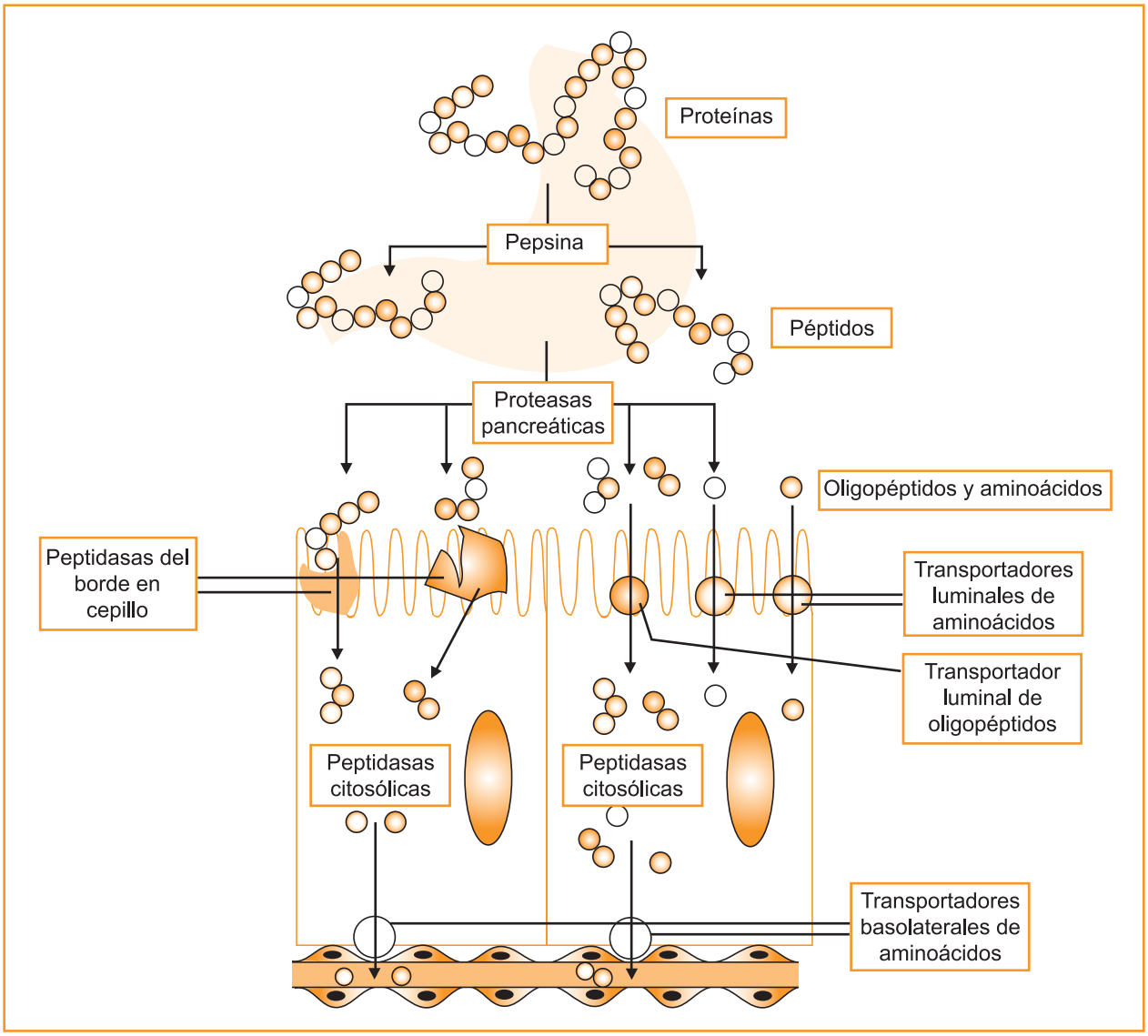


Figura 22. *Digestión y absorción de las grasas de las proteínas.*

un transporte activo secundario al movimiento de H^+, por un intercambiador H^+-Na^+ de la membrana apical que crea una diferencia de potencial electroquímica, que, junto con el ambiente ácido en la cara luminal de la membrana, favorece el paso de estos péptidos al interior del enterocito.

El transporte ileal de aminoácidos, más activo que el yeyunal, utiliza distintos sistemas. Los de la cara luminal del enterocito son muy específicos y absorben grupos de aminoácidos con determinadas características (neutros, ácidos, básicos, iminoácidos). Los sistemas transportadores de la membrana basolateral son comunes a los encontrados en otros tipos celulares (células tubulares del riñón, p. ej.). Estos sistemas de transporte son dependientes del gradiente de Na^+ y otros independientes de él. La difusión puede ser un mecanismo de absorción significativo para los aminoácidos más hidrófobos.

Los oligopéptidos que entran en el enterocito son hidrolizados por peptidasas citoplasmáticas hasta aminoácidos. No obstante, se ha observado que una pequeña cantidad de estos pequeños péptidos entran intactos en la sangre, lo que explica que ciertos péptidos, con actividad biológica, la mantengan cuando son administrados por vía oral.

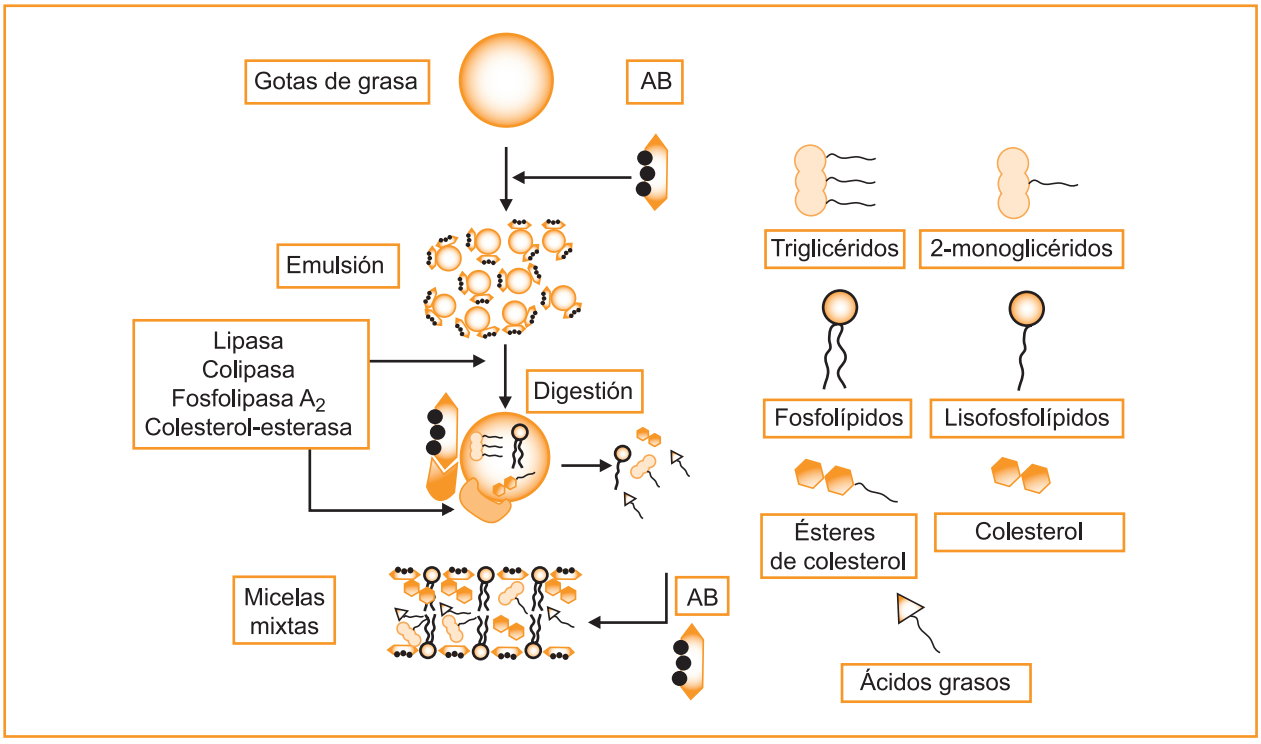


Figura 23 A. *Digestión de las grasas de la dieta. AB: ácidos biliares.*

6.5. Digestión y absorción de los lípidos

Los lípidos de la dieta son los que presentan mecanismos de digestión y absorción más complejos debido a la escasa solubilidad de ellos en el medio acuoso de la luz intestinal. Los lípidos alimentarios son, mayoritariamente, triacilglicéridos. También, aunque en menor proporción, existen fosfolípidos y colesterol, además de las vitaminas liposolubles.

6.5.1. Digestión

La digestión comienza en el estómago gracias a la actuación de una lipasa gástrica con un pH óptimo entre 3 y 6, y de una esterasa inespecífica presente en los alimentos (como la carboxil-éster lipasa de la leche). La lipólisis gástrica puede ser de importancia en la digestión de los lípidos en el neonato, pero es poco relevante en el adulto.

El páncreas secreta a la luz duodenal lipasa, colipasa, fosfolipasa A_2 (como precursor inactivo) y colesterol esterasa (lipasa no específica).

La fracción lipídica que se vacía desde el estómago es emulsionada por las sales biliares presentes en la luz duodenal formando gotículas de alrededor de 1 µm de diámetro, lo que aumenta de forma dramática la superficie de actuación de la lipasa **(Figura 23 A)**. A concentraciones fisiológicas las sales biliares inhiben la actuación de la lipasa, impidiendo su unión a la interfase agua-lípido de las gotículas.

Para evitar la inhibición, la lipasa se une a la colipasa, que desplaza las sales biliares de la interfase y permite la hidrólisis de los triacilglicéridos. La lipasa pancreática rompe los enlaces 1 y 3 del triacilglicerido, dando como productos de la digestión ácidos grasos y 2-monoglicéridos **(Figura 23 A)**.

La fosfolipasa A_2, activada por tripsina, separa de los fosfolípidos el ácido graso localizado en posición 2, dando lugar a ácidos grasos y lisofosfolípidos. La colesterol esterasa rompe los enlaces éster de distintos lípidos como ésteres de colesterol y de vitaminas A, D y E, e incluso de triacilglicéridos. En estos últimos actúa sobre los tres enlaces, dando lugar a glicerol y ácidos grasos.

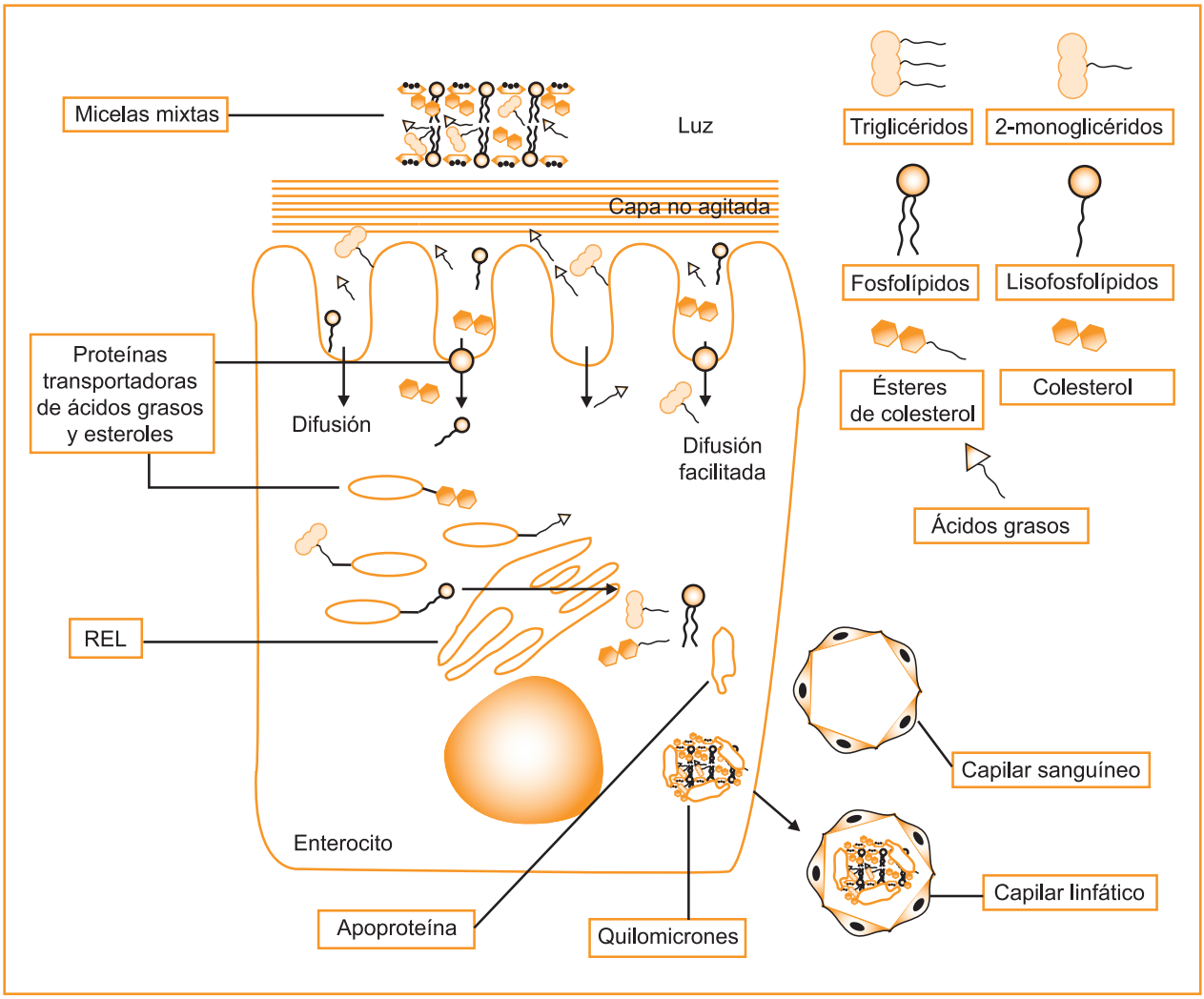


Figura 23 B. *Absorción de las grasas de la dieta. REL: retículo endoplásmico liso.*

6.5.2. Absorción

Los productos resultantes de la digestión de los lípidos alimentarios, ácidos grasos, 2-monoglicéridos, lisofosfolípidos, colesterol y vitaminas liposolubles, por su carácter hidrófobo, deben ser solubilizados en la luz intestinal para poder ser transportados hasta la vecindad de la membrana apical del enterocito, donde son absorbidos.

De nuevo las sales biliares juegan un papel crucial en el proceso de transporte luminal y absorción de estos productos mediante la formación de micelas que los solubilizan **(Figura 23 A y B)**. Estas **micelas mixtas** atraviesan la capa no agitada en contacto directo con la membrana microvellositaria. Una vez ahí, estos productos en altas concentraciones, al ser liposolubles, atraviesan la membrana por difusión. Aunque esta vía existe, hoy en día se conocen otros mecanismos de absorción de los productos de la digestión lipídica en los que están implicados transportadores con una cierta especificidad. Estos transportadores pertenecen a la familia de proteínas fijadoras de ácidos grasos (FABP) y son dependientes de los movimientos de Na^+ **(Figura 23 B)**.

El colesterol entra al enterocito por difusión; sin embargo, existen mecanismos que limitan la absorción de este lípido y otros de estructura semejante (esteroles vegetales) y que implican proteínas que sacan activamente estos compuestos del interior del enterocito. Una vez dentro del enterocito, todos ellos se unen a proteínas de unión específica

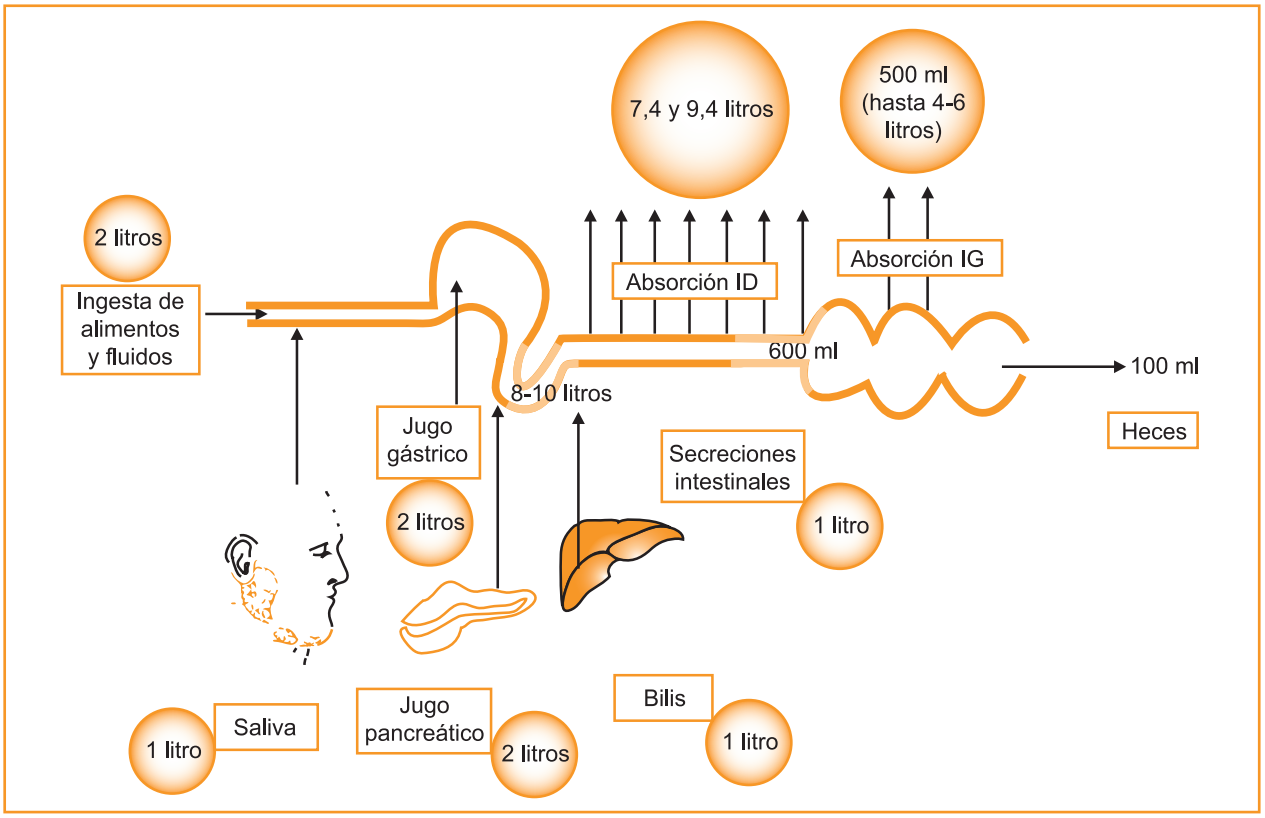


Figura 24. *Balance de fluidos en el tracto gastrointestinal.*

[proteína transportadora de ácidos grasos (FABP) y proteína transportadora de esteroles (SCP)], que evitan su acumulación en el citoplasma debido a su insolubilidad, y son transportados hacia el retículo endoplásmico liso, donde tiene lugar la resíntesis, formándose de nuevo triacilglicéridos, fosfolípidos y ésteres de colesterol. Todos estos lípidos se unen a apoproteínas (apoB, C y A) y son modificados en el complejo de Golgi formándose los quilomicrones que por exocitosis salen del enterocito y entran al capilar linfático a través de las fenestraciones de su endotelio **(Figura 23 B)**.

Los ácidos grasos de cadena corta y media no tienen que ser solubilizados por las micelas y atraviesan la membrana enterocitaria, siendo liberados a la sangre directamente.

6.6. Balance de fluidos en el tracto gastrointestinal

El tracto gastrointestinal recibe diariamente entre 7 y 10 litros de líquidos, de los que es absorbido casi el 98%, eliminándose sólo pequeñas cantidades por heces.

Los liquidos presentes en la luz gastrointestinal, en 24 horas, provienen de su ingestión con alimentos y bebidas (aproximadamente 2 l) y los restantes, hasta el total, de las distintas secreciones. La saliva aporta 1 l, el jugo gástrico, 2 l, el jugo pancreático, 2 l, la bilis, 1 l, y las secreciones intestinales, 1 l. Del total, sólo llegan a intestino grueso 600 ml, y en heces sólo se excretan 100 ml. Por tanto, unos 6,5 l son absorbidos en intestino delgado y unos 500 ml en el grueso en condiciones normales, aunque este último segmento tiene una capacidad absortiva que oscila entre 4 y 6 l **(Figura 24)**.

La absorción de agua en el tracto digestivo es pasiva a favor de un gradiente osmótico e hidrostático (fuerzas de Starling) creado por el transporte activo de electrólitos (especialmente Na^+).

Los iones son transportados a través del epitelio intestinal por rutas transcelulares y paracelulares. Los procesos implicados son diversos. El Na^+ se transporta por cuatro mecanismos: difusión restringida a través de canales de membrana, cotransporte

con solutos orgánicos, como se ha estudiado en la absorción de glucosa y aminoácidos, cotransporte Na^+-Cl^- y el antiporte Na^+-H^+. Uno u otro están presentes dependiendo del segmento intestinal considerado. Este catión deja el enterocito por la actividad de una ATPasa-Na^+-K^+ dependiente.

El Cl^- se absorbe a favor de un gradiente eléctrico en toda la longitud intestinal, aunque en el íleon se cotransporta con Na^+, siendo este último el mecanismo mayoritario en este segmento.

El movimiento de líquidos (absorción o secreción) tiene lugar en respuesta a gradientes osmóticos originados por el movimiento de iones inorgánicos o solutos orgánicos osmóticamente activos. Los solutos son transportados desde la luz al interior del enterocito y después al espacio intercelular. Este movimiento crea un gradiente osmótico que hace que el agua se mueva desde la luz hacia el compartimiento intercelular incrementando en él la presión hidrostática que determina su movimiento a través de la membrana basal hacia el capilar sanguíneo vellositario. Este modelo contempla tres compartimientos diferentes (lumen intestinal, espacio intercelular y luz capilar). En los procesos de secreción el agua del espacio intercelular es arrastrada osmóticamente hasta la luz intestinal.

La absorción de electrólitos, y consecuentemente de agua, es llevada a cabo por los enterocitos maduros, que se encuentran en la zona apical de las vellosidades intestinales que expresan en su membrana luminal todos los mecanismos de transporte de iones y solutos orgánicos. Por el contrario, los enterocitos de las criptas, menos diferenciados y maduros, secretan iones Cl^-, y por tanto tienen una función de secreción neta de agua a diferencia de los vellositarios.

El imbalance del fluidos en el tracto gastrointestinal puede deberse a una alteración de los mecanismos intestinales de secreción y absorción (menor absorción y/o mayor secreción), o bien por la presencia de un exceso de solutos, osmóticamente activos en la luz como consecuencia de síndromes de malabsorción o maladigestión, lo que determina la entrada de agua hacia la luz intestinal.

7. Resumen

- El sistema gastrointestinal, que incluye el tracto gastrointestinal y las glándulas anejas (glándulas salivales, páncreas e hígado), es el encargado de incorporar al medio interno los nutrientes y otros componentes contenidos en los alimentos. Para llevar a cabo este cometido realiza cuatro funciones básicas: motilidad, secreción, digestión y absorción. Las funciones motoras permiten la progresión del alimento (más o menos modificado) de forma ordenada por los distintos compartimentos y segmentos del tracto gastrointestinal en sentido oral-aboral, la eliminación de los residuos no digestibles y facilitan los procesos de digestión y absorción, permitiendo la mezcla con las secreciones digestivas y la renovación de la capa de contenido luminal en contacto con la mucosa absortiva. Las secreciones digestivas (saliva, jugo gástrico, jugo pancreático, bilis y secreciones intestinales) son las responsables de transformar las grandes y complejas moléculas presentes en los alimentos en otras, más pequeñas y sencillas, que puedan ser incorporadas al torrente sanguíneo y utilizadas por los diferentes tejidos y órganos. Esta transformación la realizan principalmente por su contenido en enzimas hidrolíticas (lipasas, proteasas, amilasas, etc.) y en otras sustancias que facilitan la acción de aquéllas (ácido clorhídrico, ácidos biliares, etc.). La digestión es el proceso de transformación de los componentes alimentarios (nutrientes y no nutrientes) para que puedan incorporarse al medio interno. La absorción es la encargada de permitir el paso de esos compuestos a través de la barrera intestinal (digestiva) y utiliza distintos mecanismos (difusión, difusión facilitada, transporte activo, etc.).

- El sistema gastrointestinal tiene un importante papel defensivo, como barrera, para evitar la entrada de microorganismos patógenos y sustancias potencialmente dañinas para el organismo. Para ello el sistema inmunitario gastrointestinal está muy desarrollado (placas de Peyer, células inmunocompetentes mucosales, etc.).

- Las funciones digestivas están reguladas y coordinadas por dos tipos de mecanismos: nervioso y humoral. Estos mecanismos son de tipo reflejo y responden a estímulos, en su gran mayoría, procedentes de la luz gastrointestinal (medio externo) y que consisten en cambios en la naturaleza físico-química del contenido luminal (concentración de hidrogeniones, osmolaridad, presencia de nutrientes, etc.) o estímulos mecánicos de distensión de distintos segmentos. Estos estímulos ponen en marcha reflejos nerviosos o humorales (endocrinos o paracrinos), que actúan sobre los diferentes efectores del sistema gastrointestinal (fibras musculares lisas, células secretoras exocrinas, vasos sanguíneos, células inmunitarias, células enteroendocrinas), modificando su actuación y regulando las distintas funciones.

- Los mecanismos de regulación nerviosa pueden ser extrínsecos, mediados por las divisiones simpática y parasimpática del sistema nervioso autónomo, basados en reflejos largos, e intrínsecos, en los que interviene el sistema nervioso entérico a través de reflejos cortos. Los mecanismos de control humoral se basan en la liberación de distintas hormonas y péptidos por células endocrinas, muy abundantes, situadas en el tracto gastrointestinal o en glándulas anejas. Existe una estrecha relación entre ambos sistemas de control interactuando entre ellos para elaborar una respuesta adecuada y óptima al estimulo que la inició (integración neuroendocrina).

8. Bibliografía

Berne RM, Levy MN, Koeppen BM y Stanton BA. Physiology, 5th ed. Mosby. St. Louis, 2004.
Libro clásico de Fisiología humana, con un capítulo muy actualizado sobre Fisiología gastrointestinal.

Gratner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. WB Saunder Company. Philadelphia, 1993.
Texto de Histología Humana con excelentes ilustraciones en color. Cada capítulo tiene algunos aspectos de Histofisiología.

Hansen MB. The Enteric Nervous System I: Organization and Classification. Pharmacol Toxicol 2003; 92: 105-13.
Revisión actual del sistema nervioso entérico su organización anatómica y funcional y la clasificación de todos sus elementos (neuronas, neurotransmisores, etc.).

Hansen MB. The Enteric Nervous System II: Gastrointestinal Functions. Pharmacol Toxicol 2003; 92: 249-57.
Segunda parte de esta revisión actual del sistema nervioso entérico en la que se describe y explica su actuación en distintas funciones gastrointestinales.

Henderson JM. Gastrointestinal Pathophysiology (Lippincott's Pathophysiology Series). Lippincott-Raven. Philadelphia, 1996.
Monografía dedicada a la Fisiopatología del tracto gastrointestinal desde un punto de vista clínico, aunque todos los capítulos tienen un fundamento fisiológico de las alteraciones que describe, por ejemplo, el capítulo dedicado a las diarreas.

Johnson LR. Gastrointestinal Physiology, 6th ed. Mosby. St. Louis, 2001.
Última edición de la monografía clásica de Johnson sobre Fisiología del tracto gastrointestinal.

Mataix J, Martínez de Victoria E. El proceso digestivo. Máster a distancia en Nutrición y Alimentación; Módulo 1, Capítulo 1. Universitat de Barcelona Virtual e Instituto Micromat, 2004.
Capítulo del Máster en Nutrición y Alimentación de la Uniersidad Virtual de Barcelona, en el que se recogen distintos aspectos de la Fisiología gastrointestinal.

Mataix J, Martínez de Victoria E. Manual de Fisiología. Sistema digestivo y Nutrición. Departamento de Fisiología. Universidad de Granada. Granada, 1997.
Manual de Fisiología digestiva dirigido a los alumnos de Biología y Farmacia de la Universidad de Granada.

Mataix J, Martínez de Victoria E. Sistema digestivo. Bases Fisiológicas. En: Mataix J (ed.). Nutrición y Alimentación Humana. Volumen 1. Ergon. Madrid, 2002.
Capítulo sobre bases fisiológicas de la Nutrición dentro de un Tratado de Nutrición y Alimentación Humana.

McPhee SJ, Lingappa VR, Ganong WF, Lange JD. Pathophysiology of Disease (An Introduction to Clinical Medicine), 2th ed. Appleton and Lange. Stanford, 1997.
Libro dedicado a las bases fisiopatológicas de la enfermedad. En cada capítulo hay una introducción de la función normal de cada uno de los sistemas, incluido el gastrointestinal.

9. Enlaces web

- gastroresource.com/GITextbook/en/Default.htm
- mcb.berkeley.edu/courses/mcb136/topic/Gastrointestinal
- www.pitbossannie.com/rp-qp-g.html
- www.bondisalud.com.ar/primeraHoja.html
- w3.uokhsc.edu/human_physiology/StudyAids.html
- www.the-aps.org/education/MedPhysObj/anchor421584
- www.med.uiuc.edu/histo/small/atlas/slidese.htm

1.9. Metabolismo de los hidratos de carbono

Olga Martínez Augustin ■ Víctor Puerta Fernández ■ María Dolores Suárez Ortega

Capítulo 1.9.

Metabolismo de los hidratos de carbono

1. Introducción

2. Metabolismo de glucosa

2.1. Entrada de glucosa a las células

2.2. Glucólisis

2.2.1. Fase preparatoria

2.2.2. Fase de obtención de energía

2.2.3. Regulación de la glucólisis

2.3. Fermentación láctica

2.4. Vía de las pentosas fosfato

2.4.1. Fase oxidativa

2.4.2. Fase no oxidativa

2.4.3. Regulación de la vía de las pentosas fosfato

2.5. Formación de ácido glucurónico

2.6. Gluconeogénesis

2.6.1. Etapas enzimáticas

2.6.2. Sustratos gluconeogénicos

2.6.3. Consumo de etanol y gluconeogénesis

2.6.4. Gluconeogénesis renal y acidosis metabólica

2.7. Regulación coordinada de la glucólisis y de la gluconeogénesis

2.7.1. Regulación alostérica

2.7.2. Regulación hormonal

2.8. Ciclos de sustrato

3. Metabolismo de otros monosacáridos

3.1. Fructosa

3.2. Galactosa

3.3. Manosa

4. Metabolismo de polialcoholes

4.1. Metabolismo del sorbitol

4.2. Metabolismo del xilitol

5. Metabolismo del glucógeno

5.1. Biosíntesis de glucógeno

5.2. Degradación del glucógeno
5.3. Regulación del metabolismo de glucógeno
5.3.1. Regulación de la degradación
5.3.2. Regulación de la biosíntesis

6. Metabolismo de oligosacáridos. Biosíntesis de lactosa

7. Biosíntesis de aminoazúcares

8. Resumen

9. Bibliografía

10. Enlaces web

Objetivos

- Conocer los conceptos de glucólisis, gluconeogénesis, glucogenosíntesis y glucogenólisis.
- Describir las diferentes reacciones de la glucólisis y de la gluconeogénesis.
- Identificar las etapas limitantes de la glucólisis y de la gluconeogénesis, estudiando su regulación.
- Estudiar los sustratos gluconeogénicos más importantes en condiciones fisiológicas.
- Conocer la vía de las pentosas fosfato y su función.
- Conocer la ruta de biosíntesis del ácido glucurónico por su importante papel en reacciones de destoxificación.
- Comprender el metabolismo del glucógeno y su función, diferenciando claramente su papel en el hígado y en el músculo esquelético, así como su regulación diferencial.
- Entender las reacciones mediante las cuales otros monosacáridos y polialcoholes ingresan en la ruta central del metabolismo glucídico.
- Conocer las rutas de biosíntesis de aminoazúcares, en tanto en cuanto son precursores de otras biomoléculas.

1. Introducción

Los hidratos de carbono constituyen el grupo de biomoléculas más abundantes en la naturaleza y, dentro de ellos, el de mayor importancia metabólica es la glucosa, que es el combustible por excelencia de todas las células.

En este Capítulo se incluyen las distintas rutas del metabolismo de los hidratos de carbono. En primer lugar, se estudia la glucólisis, que es la vía de degradación de glucosa hasta piruvato y que constituye la ruta central del catabolismo de los hidratos de carbono.

Otra de las rutas de degradación de la glucosa es la vía de las pentosas fosfato, en la que se obtienen pentosas y poder reductor en forma de NADPH, que serán utilizados en reacciones biosintéticas y en la defensa antioxidante. La conversión de glucosa en ácido glucurónico representa otra vía de interés, ya que una de las formas de eliminación de xenobióticos implica su conjugación con este ácido.

La gluconeogénesis, que es la síntesis de glucosa a partir de precursores no glucídicos, es una ruta que sólo se realiza en todas sus etapas en el hígado y en la corteza renal. Se describen de forma conjunta en este Capítulo los mecanismos de regulación de la glucólisis y de la gluconeogénesis hepáticas, dado que, al ser dos rutas que funcionan en sentido opuesto, deben estar muy bien coordinadas.

Si bien la glucosa es la molécula de mayor importancia de entre los hidratos de carbono, otros monosacáridos procedentes de la dieta, como la fructosa y la galactosa y, en menor proporción, la manosa, se metabolizan a intermediarios de la ruta central del metabolismo. Junto a ellos, en este Capítulo, se incluyen algunos polialcoholes, como el xilitol y el sorbitol, utilizados como edulcorantes. Asimismo, se incluye el metabolismo de la lactosa.

En este Capítulo se estudia también el metabolismo del glucógeno, su biosíntesis y degradación, destacando su función diferente en el hígado y en el músculo, y dedicando una atención especial a su regulación en ambos tejidos.

Por último, dado que los hidratos de carbono forman parte de biomoléculas complejas como las glicoproteínas, proteoglicanos y glicolípidos, se detallará su ruta de biosíntesis.

2. Metabolismo de la glucosa

2.1. Entrada de la glucosa a las células

La mayoría de las células de los mamíferos captan la glucosa, además de otros azúcares y polialcoholes, a través de unas proteínas transportadoras de membrana que se denominan **GLUT** (***Glu**cose **T**ransporters*, transportadores de glucosa). Hasta el momento, se conocen 13 miembros de esta familia, que se caracterizan por poseer 12 fragmentos transmembrana y una serie de aminoácidos muy conservados, los cuales se consideran directamente implicados en su función.

Las distintas isoformas de GLUT difieren en su localización tisular, sus características cinéticas y su dependencia o no de insulina. De hecho, la absorción de glucosa se regula en función de la expresión y localización de los distintos GLUT en distintas células y en distintos estados metabólicos. Los GLUT2, 3 y 4 constituyen ejemplos válidos para ilustrar la regulación de la absorción de glucosa por este tipo de transportadores. Así, el GLUT3 es el principal transportador de glucosa en el cerebro y posee una K_m (1 mM), muy por debajo de los niveles de glucemia normales (4-7 mM), lo que indicaría que transporta glucosa de manera constante al interior de las células que lo expresan. Por su parte, el GLUT2 posee una K_m alta (15-20 mM), por lo que las células que lo expresan sólo absorben glucosa cuando la glucemia está elevada. Este transportador se expresa, entre otras, en las células β pancreáticas, en las que la entrada de glucosa es señal de que la glucemia sanguínea se encuentra elevada y de que deben desencadenarse los mecanismos necesarios para la liberación de insulina (producción de ATP por degradación de glucosa con la consiguiente inhibición del canal K+-ATP, activándose la entrada de calcio y, como consecuencia, la liberación de insulina de los endosomas a la sangre). Por último, el GLUT4 es un transportador que se expresa en el músculo y en el tejido adiposo. La localización en la célula de este transportador, y por tanto su actividad, depende de los niveles sanguíneos de insulina, ya que ésta es necesaria para que el receptor, que normalmente se encuentra almacenado en unas vesículas intracelulares, se inserte en la membrana plasmática.

La **Tabla 1** recoge algunas de las características de los diferentes GLUT.

2.2. Glucólisis

La glucólisis es la ruta central del catabolismo de la glucosa. En la misma se degrada la glucosa con un doble objetivo: obtener energía en forma de ATP y suministrar precursores para la biosíntesis de componentes celulares. La glucólisis se produce en todas las células de mamíferos, siendo la fuente exclusiva o casi exclusiva de energía en algunas células y tejidos, como los eritrocitos, la médula renal, el cerebo y los testículos.

La glucólisis se desarrolla íntegramente en el citoplasma y en ella una molécula de glucosa se escinde para dar lugar a dos moléculas de piruvato. En esta ruta se pueden distinguir dos fases: fase preparatoria, en la que se convierte la glucosa en dos moléculas de triosas fosfato **(Figura 1)**, y fase de obtención de energía, con la conversión de las dos moléculas de triosas en dos de piruvato, y obtención de ATP y NADH **(Figura 2)**.

2.2.1. Fase preparatoria

En esta fase, la glucosa se modifica para dar lugar a fructosa-1,6-bisfosfato, que se escinde para dar lugar a dos triosa fosfato con consumo de ATP.

La fase preparatoria de la glucólisis se puede dividir en las siguientes etapas:

2.2.1.1. Fosforilación de la glucosa

En general, todos los hidratos de carbono deben convertirse en sus correspondientes formas activas para poder ser metabolizados. Aunque en algunas rutas metabólicas la forma activa se obtiene por incorporación de nucleósidos difosfato (UDP-azúcares), en la mayoría de las rutas, incluida la glucólisis, la activación consiste en la obtención de la forma fosforilada. Por tanto, la fosforilación de la glucosa es la primera etapa en la fase preparatoria de la glucólisis. En esta reacción irreversible la glucosa se fosforila por una kinasa a expensas de ATP para convertirse en glucosa 6-fosfato **(Figura 1)**. De esta forma, además de activarse para su degradación, se evita que la glucosa salga de la célula.

Tabla 1. CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE LOS GLUT (TRANSPORTADORES DE GLUCOSA)

Isoforma	Principal localizaci□n	Propiedades caracter□sticas
GLUT1	Mayor□a de las membranas	
GLUT2	H□gado, p□ncreas, intestino y ri□□n	Baja afinidad por la glucosa. No limita la velocidad de transporte
GLUT3	Cerebro	Alta afinidad por la glucosa (gran demanda)
GLUT4	Tejido adiposo, coraz□n, m□sculo esquel□tico y cerebro	Alta afinidad por la glucosa Dependiente de insulina
GLUT5	Intestino delgado, test□culos y ri□□n	Absorci□n de glucosa de la dieta
GLUT6	Bazo, leucocitos y cerebro	Regulado por redistribuci□n subcelular entre la membrana plasm□tica y las membranas internas
GLUT7	Posiblemente ret□culo endopl□smico de hepatocitos	Facilita la salida de glucosa libre
GLUT8	Test□culos, blastocitos, cerebro, m□sculo y adipocitos	Regulado por redistribuci□n subcelular entre la membrana plasm□tica y las membranas internas
GLUT9	H□gado y ri□□n	
GLUT10	H□gado y p□ncreas	
GLUT11	Coraz□n y m□sculo esquel□tico	
GLUT12	Coraz□n, m□sculo esquel□tico, tejido adiposo, pr□stata e intestino delgado	Dependiente de insulina
GLUT13	Cerebro	Cotransporta H^+ y mioinositol

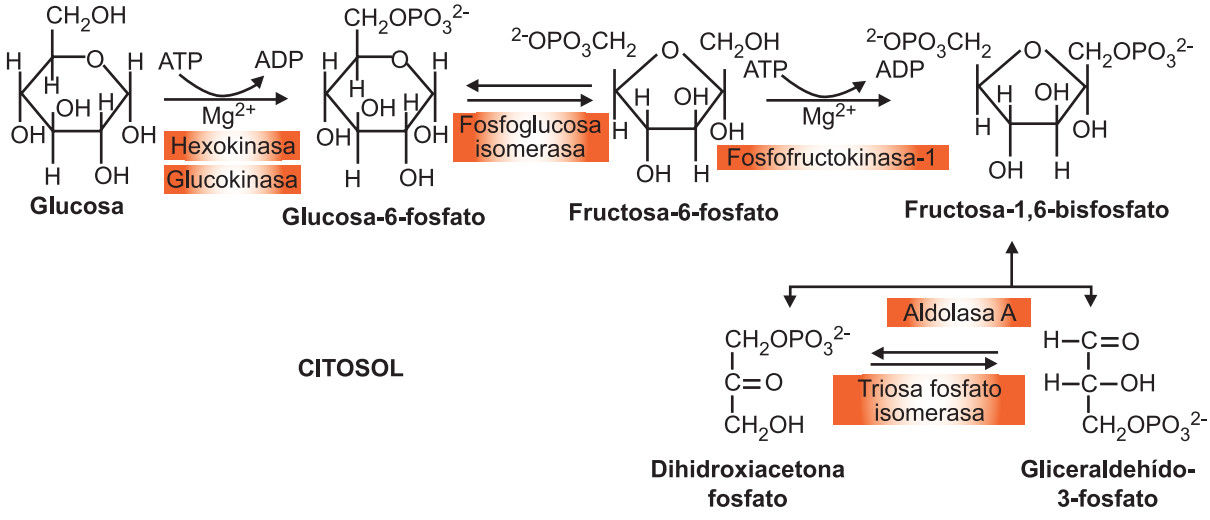


Figura 1. *Fase preparatoria de la glucólisis.*

La kinasa que cataliza la fosforilación de la glucosa en todas las células es la hexokinasa (HK). Como todas las kinasas, necesita ATP y Mg^{++}. La hexokinasa tiene poca especificidad para la glucosa y es, por tanto, capaz de fosforilar otros azúcares, pero posee, en cambio, una gran afinidad por la glucosa

(K_m: 100 µM). Esta gran afinidad asegura que la glucosa pueda ser fosforilada en todas las células, aun cuando sus niveles extracelulares sean muy bajos. En cuanto a su regulación, la hexokinasa se inhibe por su producto, la glucosa 6-fosfato.

En el parénquima hepático y en las células β del páncreas existe una isoenzima, la glucokinasa (GK), que es muy específica para la glucosa, pero tiene una baja afinidad por ésta: su K_m es alta (10 mM). Las características de esta enzima hepática y las del transportador GLUT2 que, como ya se ha comentado, tiene una alta K_m para la glucosa, hacen que el hígado sólo retire glucosa del torrente sanguíneo cuando sus niveles están elevados. Recientemente, se ha descrito que la glucokinasa está regulada por la proteína reguladora de glucokinasa (*ver apartado 2.2.3*).

2.2.1.2. Conversión de glucosa-6-fosfato en fructosa-6-fosfato

En la siguiente reacción catalizada por la fosfohexosa isomerasa (fosfoglucosa isomerasa), la glucosa-6-fosfato se convierte en fructosa 6-fosfato: es la primera etapa reversible de la vía. La fosfohexosa isomerasa también requiere Mg^{++} como cofactor y es específica para la glucosa-6-fosfato y la fructosa-6-fosfato.

2.2.1.3. Formación de fructosa-1,6-bisfosfato

La fructosa-6-fosfato se fosforila, a expensas de ATP y Mg^{++}, para convertirse en fructosa 1,6-bisfosfato por la acción de otra kinasa, la fosfofructokinasa-1 (PFK-1). Se la denomina fosfofructokinasa-1 para distinguirla de la fosfofructokinasa-2, que cataliza la formación de fructosa-2,6-bisfosfato a partir de fructosa-6-fosfato. La reacción catalizada por la fosfofructokinasa-1 es prácticamente irreversible en condiciones celulares y es la mejor regulada de la ruta glucolítica. De hecho, la fosfofructokinasa-1 es la enzima reguladora que marca el ritmo de la glucólisis; es una enzima oligomérica que tiene una cinética sigmoidal con cooperatividad positiva para su sustrato. También es alostérica y la unión de sus moduladores al sitio regulador modifica la afinidad de la enzima por su sustrato. Moduladores positivos de esta enzima son la fructosa-2,6-bisfosfato, el AMP y el ADP, mientras que el ATP se comporta como inhibidor. El citrato puede también potenciar el efecto inhibidor del ATP (*ver apartado 2.2.3*).

2.2.1.4. Ruptura de la fructosa-1,6-bisfosfato

La fructosa 1,6-bisfosfato se escinde para dar lugar a dos triosas, gliceraldehído-3-fosfato (GAP) y dihidroxiacetona fosfato (DHAP). Esta reacción está catalizada por la fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa, normalmente conocida como aldolasa.

2.2.1.5. Interconversión de triosas fosfato

Sólo una de las triosas, el gliceraldehído-3-fosfato, puede seguir la degradación por la vía glicolítica, por lo que las dos triosas se isomerizan a gliceraldehído-3-fosfato en una reacción catalizada por la triosa fosfato isomerasa (TIM). Ésta es una reacción reversible en condiciones celulares.

2.2.2. Fase de obtención de energía

En la primera fase de la glucólisis una molécula de glucosa se convierte en dos moléculas de gliceraldehído-3-fosfato. En la fase de obtención de energía **(Figura 2)** estas dos moléculas se convierten en piruvato, y la energía de la degradación de glucosa se conserva en forma de ATP y poder reductor en forma de NADH. Esta fase se divide en las siguientes etapas:

2.2.2.1. Oxidación del gliceraldehído-3-fosfato

El gliceraldehído-3-fosfato se convierte en 1,3-bisfosfoglicerato (1,3-BPG) en una reacción, reversible en condiciones celulares, catalizada por la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH). Esta enzima requiere como cofactores fosfato inorgánico (P_i) y NAD^+. La reacción oxida el grupo carbonilo del gliceraldehído y libera una gran cantidad de energía libre, pero no origina un carboxilo libre, sino que utiliza esta energía para formar, con una molécula de fosfato inorgánico, 1,3-bisfosfoglicerato. Éste es un anhídrido fosfórico carboxílico con una alta "energía libre de hidrólisis" o "rico en energía" (*ver Capítulo 1.2*). Ésta es una reacción reversible de la ruta glucolítica en condiciones celulares.

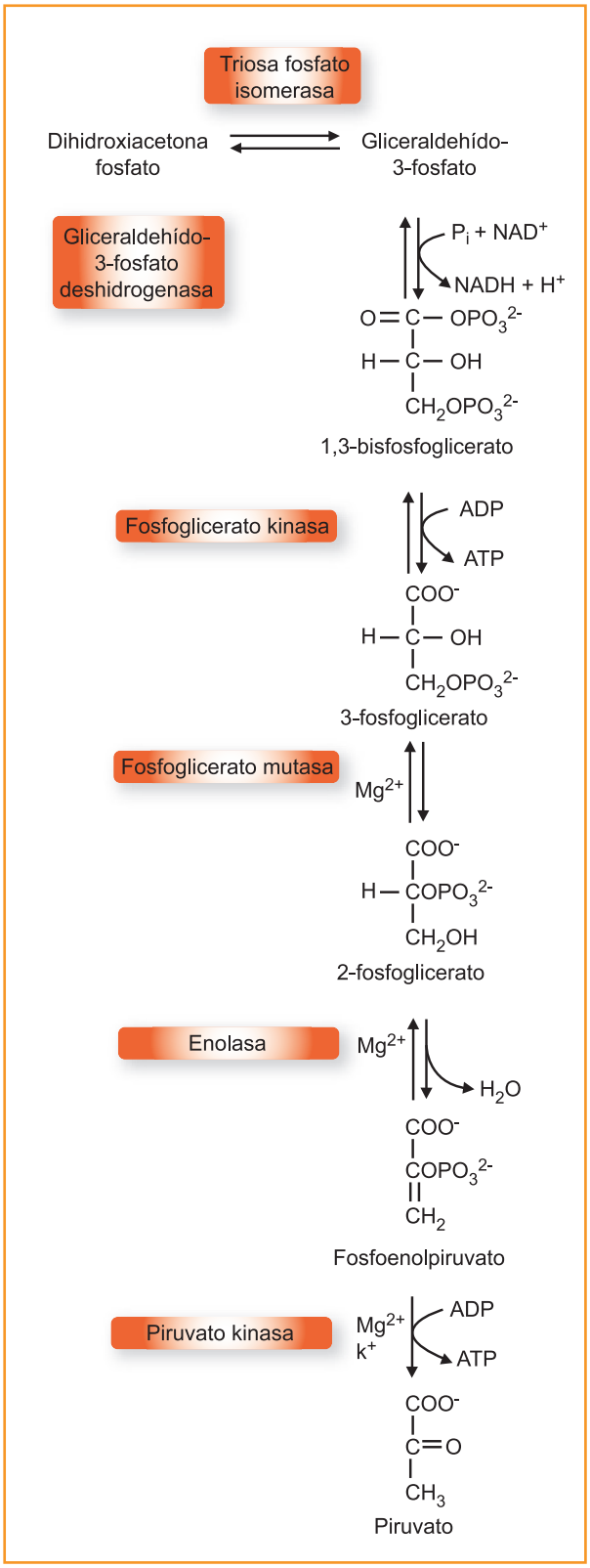


Figura 2. *Fase de obtención de energía de la glucólisis.*

2.2.2.2. Formación de ATP a partir de 1,3-bisfosfoglicerato

En la reacción siguiente, catalizada por la fosfoglicerato kinasa, el 1,3-bisfosfoglicerato se convierte en 3-fosfoglicerato y se sintetiza ATP. Es una reacción de fosforilación a nivel de sustrato, en la que el 1,3-bisfosfoglicerato cede su fosfato rico en energía al ADP. Ésta es una reacción reversible en la célula y requiere Mg^{++} como cofactor.

2.2.2.3. Conversión del 3-fosfoglicerato en 2-fosfoglicerato

El 3-fosfoglicerato se isomeriza de forma reversible a 2-fosfoglicerato por la fosfoglicerato mutasa, que requiere Mg^{++} como cofactor. La reacción transcurre en dos pasos. En el primero de ellos, la enzima, fosforilada en un resto de histidina, cede el fosfato al hidroxilo en C_2 del 3-fosfoglicerato, originando el 2,3-bisfosfoglicerato. En el paso siguiente, el 2,3-bisfosfoglicerato cede a la enzima el fosfato en C_3 y libera la enzima fosforilada y el 2-fosfoglicerato. La enzima inicialmente es fosforilada por el 2,3-bisfosfoglicerato, que funciona como un cofactor y es necesario en pequeñas cantidades para comenzar el proceso y es regenerado al final. El mecanismo de esta mutasa es semejante al de la fosfoglucomutasa, que isomeriza la glucosa-6-fosfato y la glucosa-1-fosfato utilizando como cofactor la glucosa-1,6-bisfosfato.

Enz-His-PO_3H_2 + 3-PG ⇆ 2,3-BPG + Enz-His ⇆ 2-PG + Enz-His-PO_3H_2

2.2.2.4. Formación de fosfoenolpiruvato

El 2-fosfoglicerato se deshidrata y origina fosfoenolpiruvato (PEP), que es un enol-fosfato "rico en energía" (*ver Capítulo 1.2*), en una reacción reversible catalizada por la enolasa.

2.2.2.5. Síntesis de piruvato

El fosfoenolpiruvato transfiere su fosfato al ADP en una reacción catalizada por la piruvato kinasa, que requiere Mg^{++} y K^+, para dar lugar a piruvato. Al ceder el fosfato al ADP se origina piruvato en su forma enólica, que es muy inestable y, rápidamente, se tautomeriza a su forma cetónica (muy estable),

lo que explica la gran energía libre de hidrólisis del fosfoenolpiruvato y hace que la reacción sea prácticamente irreversible en condiciones celulares.

Existen varias isoenzimas de la piruvato kinasa: M (músculo y cerebro), A (tejido adiposo) y L (hígado). Todas ellas se regulan positivamente por la fructosa-1,6-bisfosfato, mientras que el ATP y la alanina, que se obtiene a partir de piruvato por tansaminación, las inhiben alostéricamente. Además, las isoenzimas A y L pueden regularse por fosforilación (*ver apartado 2.2.3*).

2.2.2.6. Balance de la glucólisis

En la ruta de degradación de glucosa por la vía glucolítica se obtienen dos moléculas de piruvato, dos moléculas de ATP y dos de NADH. Aunque se han obtenido cuatro moléculas de ATP, se han consumido dos en la formación de la fructosa 1,6-bisfosfato. Por tanto, el balance neto de la reacción es:

Glucosa + 2 P_i + 2 ADP + 2 NAD^+ → 2 Piruvato + 2 ATP + 2 NADH + 2 H^+ + 2 H_2O

2.2.2.7. Destino metabólico del piruvato

El piruvato formado puede seguir la ruta anaerobia o la aerobia. En condiciones aerobias, el piruvato entra en la mitocondria y se oxida por la piruvato deshidrogenasa (*ver Capítulo 1.2*), para convertirse en acetil-CoA, que ingresará en el ciclo de Krebs para oxidarse a CO_2 y H_2O. Asimismo, el poder reductor del NADH, obtenido en la reacción de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa en el citosol, debe transferirse a la mitocondria utilizando para ello los sistemas de lanzaderas (*ver Capítulo 1.2*). Los equivalentes de reducción ceden sus electrones al oxígeno molecular en la cadena de transporte electrónico y dan lugar a la formación de ATP en la fosforilación oxidativa. Por tanto, en presencia de oxígeno, la cantidad de energía es mucho más elevada que cuando se degrada por vía anaerobia, obteniéndose 32 ATP si la lanzadera que funciona es la del malato-aspartato y 30 si es la del glicerol-fosfato. El acetil-CoA obtenido puede también servir como sustrato para la síntesis de ácidos grasos o colesterol dependiendo del tipo de tejido y de las condiciones fisiológicas.

En condiciones de anaerobiosis el NADH también debe ser oxidado para evitar que la glucólisis se detenga por ausencia de NAD^+; para ello, debe ceder sus electrones a otros aceptores en los procesos de fermentación.

2.2.3. Regulación de la glucólisis

El flujo de glucosa a través de la ruta glucolítica tiene que estar muy bien regulado para mantener prácticamente constantes los niveles de ATP, así como para asegurar el suministro adecuado de intermediarios con fines biosintéticos.

El primero de los aspectos que hay que considerar para estudiar la regulación de la glucólisis es la captación de glucosa. Como ya se ha comentado anteriormente, se sabe que la insulina activa la entrada de glucosa al interior de las células del músculo esquelético y del tejido adiposo por el transportador GLUT4. En ausencia de insulina, la mayoría del GLUT4 está localizado en vesículas intracelulares. La insulina estimula el transporte hacia la membrana plasmática y la inclusión del transportador en la misma al fusionarse con las vesículas. Además, la insulina produce una disminución de la endocitosis del transportador. Hay datos que sugieren que ambos mecanismos de estimulación de la captación de glucosa por la insulina están mediados por la proteína kinasa B (*ver Capítulo 1.5*).

El ajuste de la velocidad de la glucólisis se consigue mediante la regulación de las enzimas glucolíticas que catalizan las reacciones irreversibles: hexokinasa, fosfofructokinasa-1 y piruvato kinasa. Existen diferencias entre la regulación de la glucólisis en el músculo, en otros tejidos extrahepáticos y en el hígado. En este último, está coordinada con la gluconeogénesis, por lo que se estudiará de forma conjunta en el apartado 2.7 de este mismo Capítulo.

La reacción catalizada por la fosfofructokinasa-1 es la que controla principalmente la velocidad de la glucólisis. Esta enzima es muy sensible a la situación energética de la célula, así como a las concentraciones de intermediarios, como el citrato o los ácidos grasos. De hecho, la fosfofructokinasa-1 se activa por AMP y ADP, es decir, cuando la carga energética celular está baja, mientras que el ATP se comporta como inhibidor. Por supuesto,

el ATP es el sustrato de la enzima, además de inhibidor, uniéndose a sitios distintos, de forma que la unión al sitio inhibidor reduce la afinidad por el centro activo.

Por otra parte, cuando el nivel energético se eleva en la célula, se frena el ciclo de Krebs y se acumula citrato, lo que indica que existe abundancia de precursores para la biosíntesis. El citrato sale entonces de la mitocondria, se une a la fosfofructokinasa-1 y potencia el efecto inhibidor del ATP, con lo que se frena la glucólisis.

Como ya se ha comentado anteriormente, la fructosa-2,6-bisfosfato es un activador alostérico muy potente de la fosfofructokinasa-1, no es un metabolito intermediario de la ruta y sólo tiene una función reguladora. Además, su nivel está sometido a control hormonal (*ver apartado 2.7.1*).

Cuando la fosfofructokinasa se inhibe, se incrementa el nivel de fructosa-6-fosfato, lo que conduce al aumento de la concentración de glucosa-6-fosfato que, si no se desvía hacia otras rutas, inhibe a la hexokinasa y, por tanto, frena el consumo de glucosa.

Recientemente, se ha descrito que la glucokinasa está regulada por la proteína reguladora de glucokinasa (GKRP). Ésta se encuentra únicamente en el núcleo, mientras que la glucokinasa se encuentra en el núcleo y en el citosol. La proteína reguladora actúa secuestrando la glucokinasa en el núcleo de los hepatocitos cuando la concentración de glucosa es baja. Sin embargo, cuando las concentraciones de glucosa o fructosa se elevan, la glucokinasa se libera y la molécula activa es transportada hasta el citosol. Este hecho explicaría el efecto positivo que tiene la fructosa sobre la utilización de glucosa en el hígado.

La piruvato kinasa es otro de los puntos importantes de control. Como se ha comentado anteriormente, se activa por su precursor, la fructosa-1,6-bisfosfato. De hecho, esta enzima tiene una cinética sigmoidal para su sustrato, siendo prácticamente inactiva a concentraciones fisiológicas de fosfoenolpiruvato, siempre que las concentraciones de fructosa-1,6-bisfosfato sean bajas. Por el contrario, en presencia de fructosa-1,6-bisfosfato su cinética pasa a ser hiperbólica, siendo activa a concentraciones fisiológicas de sustrato. De esta forma, la fosfofructokinasa, que cataliza la síntesis de fructosa-1,6-bisfosfato, controla la actividad de la piruvato kinasa.

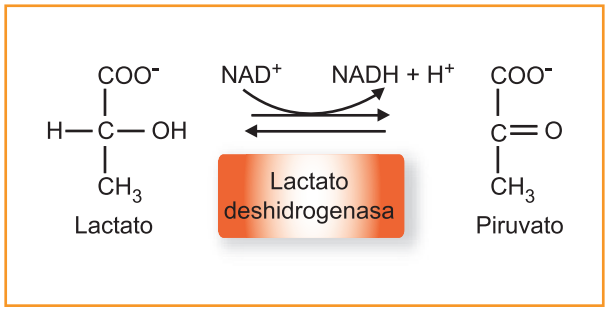


Figura 3. *Fermentación láctica.*

Por otra parte, la piruvato kinasa se inhibe alostéricamente por concentraciones altas de ATP, alanina (que se obtiene por su transaminación), acetil-CoA y ácidos grasos de cadena larga que indican la existencia de sustratos muy energéticos.

De las tres isoformas (M, A y L) (*ver apartado 2.2.3*), sólo las isoenzimas L (hepática) y A (del tejido adiposo) se regulan por fosforilación: estas isoenzimas pueden encontrarse en forma desfosforilada (activa) o fosforilada (inactiva). La forma fosforilada, y por tanto inactiva, muestra una menor afinidad por el fosfoenolpiruvato (una K_m superior) y no se activa por la fructosa-1,6-bisfosfato, aun en presencia de altas concentraciones. La isoenzima M no está fosforilada, por lo que la tendencia en el músculo es que todo el fosfoenolpiruvato se convierta en piruvato.

2.3. Fermentación láctica

Para que se mantenga el balance redox en la glucólisis en anaerobiosis, es necesaria la regeneración del NAD^+. Para ello, el NADH reduce el piruvato a lactato en una reacción catalizada por la lactato deshidrogenasa (LDH). El lactato es, por tanto, en condiciones de aporte de oxígeno insuficiente, el producto final de la degradación de glucosa en el eritrocito, la córnea, la médula renal y el músculo esquelético. El lactato obtenido es liberado a sangre, de donde es captado por otros tejidos para su posterior utilización **(Figura 3)**.

La lactato deshidrogenasa es un tetrámero formado por dos tipos de subunidades H y M, lo que da lugar a cinco isoenzimas H_4, H_3M, H_2M_2, HM_3 y M_4. Estas isoenzimas presentan distintas características cinéticas y de regulación y se localizan en tejidos distintos, lo que influye en el equilibrio de la

reacción en los mismos. La isoenzima H_4, presente en el músculo cardiaco, cataliza la reacción en el sentido de síntesis de piruvato. El corazón que tiene un metabolismo aerobio utiliza el lactato que circula en sangre tras el ejercicio, convirtiéndolo en piruvato y posteriormente lo oxida en la mitocondria para dar lugar a anhídrido carbónico y energía en forma de ATP. Por el contrario, la isoenzima M_4, presente en el músculo esquelético y en el hígado, favorece la reducción rápida del piruvato a lactato. En los otros tejidos existe una mezcla de las diferentes formas.

Dada la diferente localización tisular de las láctico deshidrogenasas, su determinación en suero tiene interés clínico en el diagnóstico y seguimiento de diferentes patologías.

Otra fermentación de gran importancia es la fermentación alcohólica que se produce en levaduras y microorganismos pero no en mamíferos. En la misma, el piruvato se descarboxila por la piruvato descarboxilasa, convirtiéndose en acetaldehído, que se reduce a expensas del NADH, dando lugar a etanol.

2.4. Vía de las pentosas fosfato

La vía de las pentosas fosfato, también conocida como ciclo de las pentosas o vía del fosfogluconato, es una ruta más compleja que la glucólisis y que la que conecta con el metabolismo de las pentosas.

Las funciones de esta ruta en el organismo humano son:

- La obtención de poder reductor en forma de NADPH, que es un coenzima de oxidación-reducción que participa en la biosíntesis de lípidos, ácidos grasos y esteroides. Además, funciona como coenzima de la glutatión reductasa, enzima que cataliza la reducción del glutatión implicado en la defensa antioxidante (*ver Capítulo 1.19*).
- La síntesis de pentosas necesarias para la biosíntesis de nucleótidos imprescindibles para la formación de ácidos nucleicos.
- La degradación de pentosas procedentes del catabolismo de los ácidos nucleicos y la metabolización del xilitol.

La vía de las pentosas fosfato es activa en el hígado, el tejido adiposo, los eritrocitos y la glándula mamaria. Todas las reacciones se llevan a cabo en el citoplasma, y todas las enzimas que participan en la misma son solubles.

Se pueden distinguir dos fases, una oxidativa irreversible y una no oxidativa reversible. La primera consiste en la formación de ribulosa-5-fosfato a partir de glucosa-6-fosfato, y la segunda, en la conversión de ribulosa-5-fosfato en glucosa-6-fosfato **(Figura 4)**. Seis moléculas de glucosa-6-fosfato dan lugar a seis CO_2 y seis pentosas que se pueden interconvertir para generar cinco moléculas de glucosa-6-fosfato.

2.4.1. Fase oxidativa

La primera de las reacciones de la vía de las pentosas fosfato es la deshidrogenación enzimática de la glucosa-6-fosfato por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa que requiere Mg^{++} como cofactor. El aceptor de hidrógeno en esta reacción es el $NADP^+$ y la reacción está muy desplazada en el sentido de formación de NADPH. El producto de la reacción es la 6-fosfoglucono-δ-lactona, éster interno que se hidroliza por una lactonasa para dar el 6-fosfogluconato.

En la etapa siguiente, el 6-fosfogluconato se deshidrogena y descarboxila para dar lugar a ribulosa-5-fosfato, generando una nueva molécula de NADPH en una reacción catalizada por la 6-fosfogluconato deshidrogenasa, que requiere también Mg^{++} como cofactor.

2.4.2. Fase no oxidativa

La ribulosa-5-fosfato, obtenida en la fase oxidativa, puede sufrir reacciones de isomerización y epimerización. La fosfopentosa isomerasa convierte la ribulosa-5-fosfato en su correspondiente aldosa, ribosa-5-fosfato. La fosfopentosa epimerasa convierte la ribulosa-5-fosfato en xilulosa-5-fosfato.

Estas pentosas fosfato, originadas en las reacciones anteriores, sufren reacciones de interconversión en las que participan dos enzimas, la transcetolasa y la transaldolasa. Estas dos enzimas relacionan la vía de las pentosas fosfato con la glucólisis. La transcetolasa, enzima que tiene pirofosfato de tiamina (TPP) como grupo prostético (*ver Capítulo 1.21*), transfiere un fragmento de dos carbonos de la xilulosa-5-fosfato a la ribosa-5-fosfato,

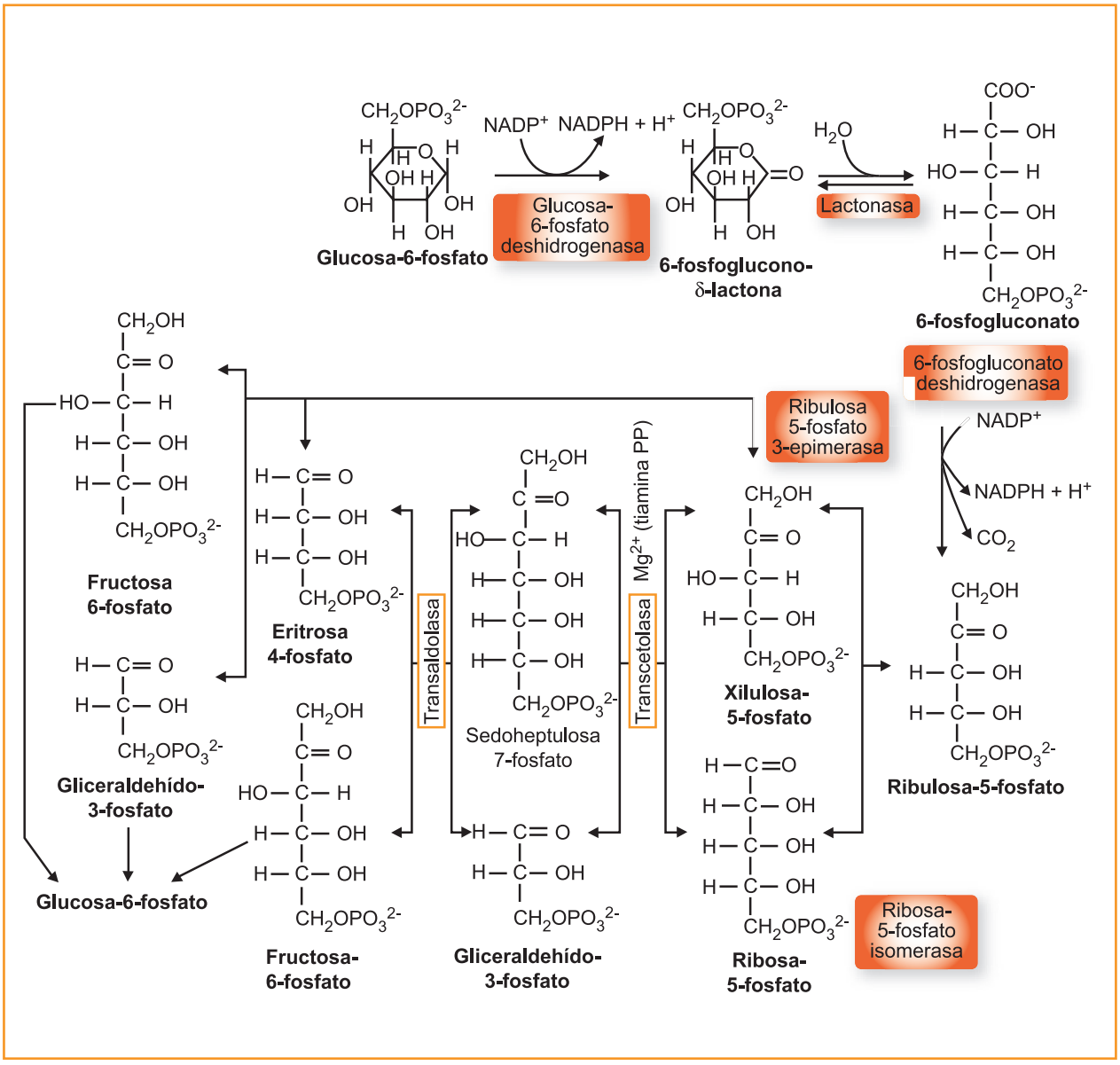


Figura 4. *Vía de las pentosas fosfato.*

originando un azúcar de siete carbonos, sedoheptulosa-7-fosfato, y gliceraldehído-3-fosfato.

La transaldolasa transfiere un fragmento de tres carbonos desde la sedoheptulosa-7-fosfato al gliceraldehído-3-fosfato, con lo que se originan una hexosa, fructosa-6-fosfato y una tetrosa, eritrosa-4-fosfato. Además, la transcetolasa transfiere un fragmento de dos carbonos desde otra nueva molécula de xilulosa-5 fosfato a la eritrosa-4-fosfato, y origina fructosa-6-fosfato y gliceraldehído-3-fosfato. Posteriormente, dos moléculas de gliceraldehído-3-fosfato siguen las etapas de la gluconeogénesis, dando lugar a glucosa-6-fosfato. La fructosa-6-fosfato se isomeriza a glucosa-6-fosfato por la fosfohexosa isomerasa y origina glucosa-6-fosfato.

Todas las reacciones de la ruta no oxidativa de las pentosas fosfato son reversibles y, como se ha indicado, se producen en el citosol. Estas reacciones son las mismas que tienen lugar en la asimilación del anhídrido carbónico en la fotosíntesis, en la ruta que se conoce como ciclo de Calvin-Benson.

2.4.3. Regulación de la vía de las pentosas fosfato

La actividad de la vía de las pentosas fosfato está controlada por los niveles relativos de NADPH y $NADP^+$. La regulación se produce en la reacción catalizada por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, que es irreversible y es la etapa limitante de la ruta. Esta enzima se activa cuando la proporción $NADP^+$/NADPH es alta, lo que asegura que sólo funcione cuando se está necesitando el coenzima en su forma reducida. Por el contrario, la etapa no oxidativa de la vía funciona dependiendo de los niveles de sustratos.

La utilización de glucosa-6-fosfato a través de la vía de las pentosas fosfato o de la vía glucolítica depende de las necesidades de NADPH, ribosa-5-fosfato o ATP de la célula. Se pueden considerar las siguientes modalidades:

a) En algunos tejidos en los que se requieren tanto ribosa-5-fosfato como NADPH, la glucosa-6-fosfato se metaboliza hasta ribosa-5-fosfato según la siguiente reacción:

Glucosa-6-fosfato + 2 $NADP^+$ + H_2O → ribosa-5-fosfato + CO_2 + 2 NADPH + 2 H^+

El resultado neto es la producción de NADPH como poder reductor y ribosa-5-fosfato para la síntesis de nucleótidos.

b) En los tejidos en los que se requiere mucho NADPH, la ribosa-5-fosfato se recicla para originar de nuevo glucosa-6-fosfato. La primera reacción consiste en la epimerización de la ribosa-5-fosfato a xilulosa-5-fosfato. A continuación, tienen lugar una serie de reacciones de interconversión en las que seis pentosas fosfato se convierten en cinco hexosas fosfato completando el ciclo. La reacción global es:

6 Glucosa-6-fosfato + 12 $NADP^+$ + 6 H_2O→
5 Glucosa-6-fosfato + 6 CO_2 + 12 NADPH + 12 H^+

c) En los tejidos en los que se realiza una división celular rápida y, por lo tanto, se necesitan muchos nucleótidos, se requiere un mayor aporte de ribosa-5-fosfato que de NADPH. La mayor parte de la glucosa-6-fosfato se convierte en fructosa-6-fosfato y gliceraldehído-3-fosfato por la vía glucolítica. La transaldolasa y la transcetolasa convierten dos moléculas de fructosa-6-fosfato y una de gliceraldehído-3-fosfato en tres moléculas de ribosa-5-fosfato. La reacción global es:

5 Glucosa-6-fosfato + ATP → 6 ribosa-5-fosfato + ADP + H^+

d) Cuando se requiere NADPH y ATP, la ribosa-5-fosfato generada se convierte en piruvato. La fructosa-6-fosfato y el gliceraldehído-3-fosfato, obtenidos a partir de la ribosa-5-fosfato, siguen la vía glucolítica, en lugar de convertirse en glucosa-6-fosfato. Así, se genera ATP, NADPH y piruvato. La reacción es la siguiente:

3 Glucosa-6-fosfato + 6 $NADP^+$ + 5 NAD^+ + 5 P_i + 8 ADP

5 Piruvato + 3 CO_2 + 6 NADPH + 5 NADH + 8 ATP + 2 H_2O + 8 H^+

Si las necesidades energéticas son elevadas, el piruvato puede oxidarse para generar más ATP.

2.5. Formación de ácido glucurónico

Otra de las vías de utilización de glucosa es su conversión en D-glucuronato, lo que implica la oxidación del carbono 6 de la glucosa. En primer lugar, la glucosa-6-fosfato se convierte en glucosa-1-fosfato por la fosfoglucomutasa. La reacción transcurre en dos pasos. En el primero de ellos, la fosfoglucomutasa fosforilada en un residuo de serina de su centro activo transfiere su fosfato a la a la glucosa-6-fosfato, dando lugar a glucosa-1,6-bisfosfato. En una etapa posterior, se transfiere de nuevo un fosfato a la enzima, liberando la glucosa-1-fosfato y la enzima fosforilada. La glucosa-1,6 bisfosfato actúa como cofactor del que se requieren pequeñas cantidades para comenzar el proceso y que es regenerado al final. El mecanismo de esta reacción es similar al que se describió previamente para la fosfoglicerato mutasa (*ver apartado* 2.2.2).

A continuación, la glucosa-1-fosfato se convierte en UDP-glucosa en una reacción catalizada por

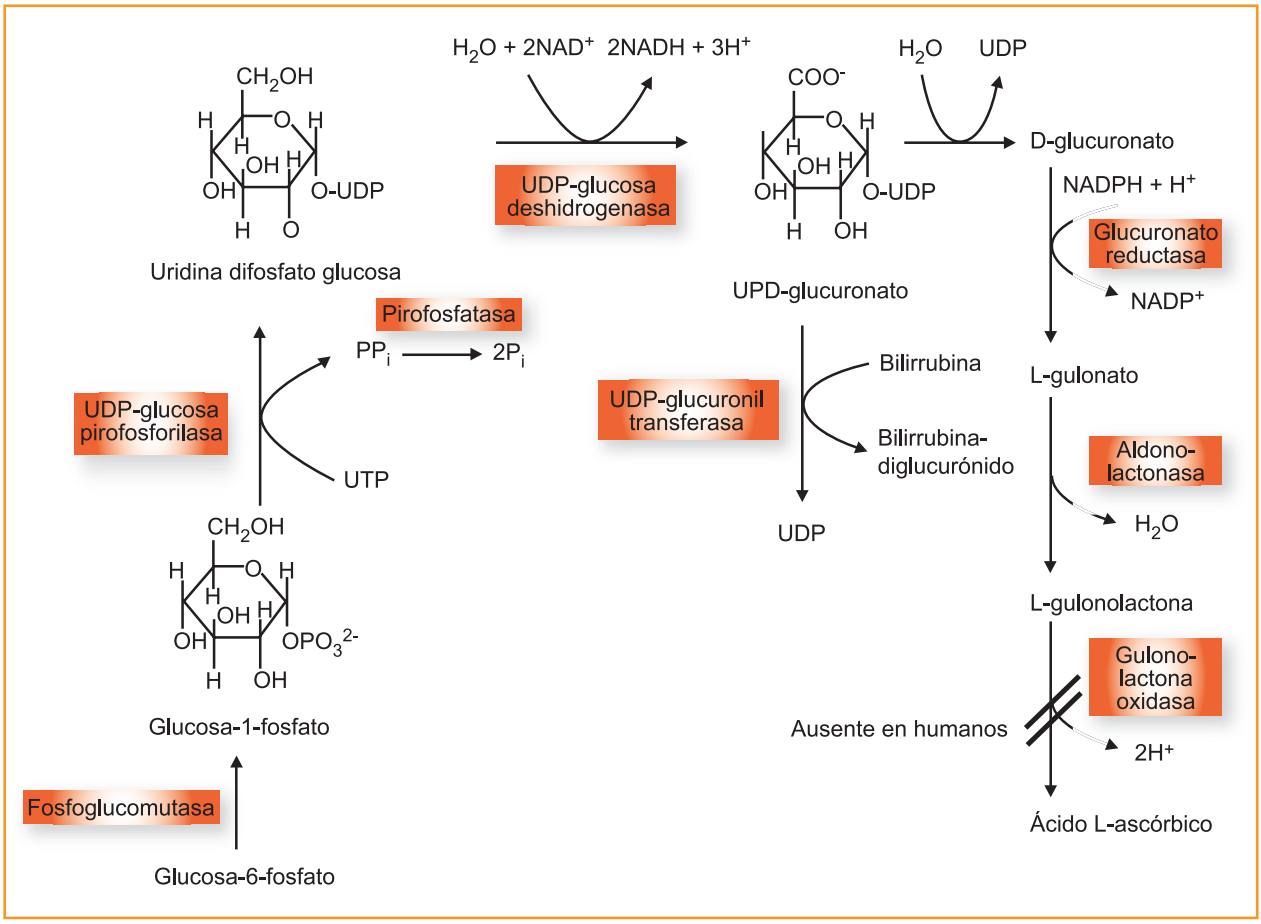


Figura 5. *Formación de ácido glucurónico y de ácido ascórbico.*

la UDP-glucosa pirofosforilasa, utilizando UTP como coenzima. En esta reacción se libera PP_i, que se hidroliza por una pirofosfatasa a P_i, lo que provoca que la reacción se desplace en el sentido de formación de UDP-glucosa. En la siguiente reacción, la UDP-glucosa se deshidrogena por la UDP-glucosa deshidrogenasa que utiliza NAD^+ como coenzima y origina UDP-glucuronato **(Figura 5)**.

El UDP-glucuronato participa como tal en la biosíntesis de polisacáridos ácidos, hialuronato y condroitín sulfato.

Otra de las funciones del UDP-glucuronato es la de ayudar a la eliminación de moléculas endógenas tales como bilirrubina y hormonas esteroídicas, así como de moléculas exógenas, y xenobióticos, entre ellos, los fármacos. Por tanto, su papel es especialmente importante en las reacciones de destoxificación hepáticas, actuando como agente conjugante en reacciones de glucuronidación de moléculas apolares para convertirlas en polares y, así, permitir su excreción. Es de especial relevancia su papel en el metabolismo de la bilirrubina para dar lugar a la forma conjugada más soluble que permite su excreción a través de la bilis **(Figura 5)**. Un fallo en esta reacción de conjugación origina ictericias por elevación en los niveles de bilirrubina indirecta, que es liposoluble, y puede ser patológica, en especial, en los recién nacidos.

En vegetales y en algunas especies animales, el ácido ascórbico puede ser sintetizado, siendo el UDP-glucuronato un intermediario en la ruta de biosíntesis **(Figura 5)**. En primer lugar, se reduce a L-gulonato por una reductasa específica, la UDP-glucuronato reductasa, que utiliza como coenzima el NADPH. Posteriormente, en una reacción catalizada por la aldonolactonasa, el L-gulonato forma un éster interno, L-gulonolactona. La L-gulonolactona se oxida por una flavoproteína, la gulonolactona oxidasa, y origina ácido ascórbico o vitamina C. En el organismo humano no existe la gulonolacto-

na oxidasa, por lo que el ácido ascórbico no puede sintetizarse y, por ello, es una vitamina que debe ser aportada en la dieta.

2.6. Gluconeogénesis

La gluconeogénesis es la ruta por la que se sintetiza glucosa a partir de precursores no glucídicos. La importancia de esta vía viene dada por la necesidad que tienen algunos tejidos y órganos (el cerebro y el sistema nervioso central, la médula renal, el cristalino, la retina, los testículos y los eritrocitos) de disponer de glucosa de forma permanente, dado que es su combustible metabólico de forma prácticamente exclusiva.

2.6.1. Etapas enzimáticas

La ruta gluconeogénica transcurre de forma inversa a la glucólisis. No obstante, y dado que algunas de las etapas de la glucólisis son irreversibles, existen unas enzimas típicamente gluconeogénicas para poder superarlas **(Figura 6)**. Estas enzimas existen sólo en el hígado y en la corteza renal, por lo que la gluconeogénesis sólo puede llevarse a cabo completamente en estos tejidos **(Figura 7)**. A continuación, se comentan en detalle las etapas no reversibles de la gluconeogénesis.

2.6.1.1. Formación de fosfoenolpiruvato a partir de piruvato

La primera etapa de la gluconeogénesis es la conversión de piruvato en fosfoenolpiruvato. La reacción glucolítica es irreversible, dado que tiene una variación de energía libre estándar muy negativa y, para invertirla, se requiere dar un rodeo en el que participan dos enzimas con distinta localización: la piruvato carboxilasa, que se localiza en las mitocondrias, y la fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK), que es citosólica.

Como consecuencia, el piruvato debe inicialmente transportarse a la mitocondria, donde la piruvato carboxilasa catalizará su conversión en oxalacetato. Esta enzima requiere biotina, ATP y HCO_3^-. Además, sólo es activa en presencia de acetil-CoA, como modulador alostérico positivo indispensable. El oxalacetato es un intermediario del ciclo de Krebs, por lo que ésta es también una reacción anaplerótica (que conduce a la reposición o síntesis de componentes de vías metabólicas) del ciclo de Krebs.

Para continuar la gluconeogénesis, el oxalacetato debe salir de la mitocondria. No obstante, el oxalacetato no tiene transportador en la membrana mitocondrial, por lo que debe convertirse en malato o aspartato para poder ser transportado.

Para su conversión en malato, el oxalacetato se reduce por la malato deshidrogenasa mitocondrial, utilizando NADH como reductor. El malato sale al citosol y se oxida por la malato deshidrogenasa citosólica utilizando NAD^+ como aceptor y de esta forma se obtiene, además de oxalacetato, NADH para la reducción que tiene lugar en una reacción posterior catalizada por la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa.

El oxalacetato se puede convertir también en aspartato por la glutamato-oxalacetato transaminasa (GOT) mitocondrial. El aspartato sale de la mitocondria, y por la glutamato-oxalacetato transaminasa citosólica se convierte en oxalacetato (*ver Capítulo 1.14*).

Entre estos dos sistemas de transporte, hay una diferencia importante. En uno se obtiene NADH citosólico y en el otro no. La utilización de un sistema u otro dependerá de los sustratos de partida de la gluconeogénesis. Así, saldrá como aspartato si los sustratos gluconeogénicos son lactato o glicerol, ya que éstos en su oxidación aportan NADH en el citosol para la reducción catalizada por la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. En el caso de otros sustratos que no aportan NADH, como la alanina, saldrá como malato para aportar poder reductor al citosol, al regenerar el oxalacetato.

Como ya se ha mencionado, una vez en el citosol, el oxalacetato se descarboxila por la fosfoenolpiruvato carboxikinasa, originándose fosfoenolpiruvato en una reacción reversible en condiciones intracelulares. Esta enzima requiere Mg^{++} y GTP como donador de fosfato. La fosfoenolpiruvato carboxikinasa se encuentra en algunas especies animales tanto en el citosol como en la mitocondria, siendo la forma citosólica la más importante, ya que está sometida a regulación hormonal. Si la reacción es llevada a cabo por la forma mitocondrial, el fosfoenolpiruvato se obtiene en la mitocondria y puede salir como tal hacia el citosol.

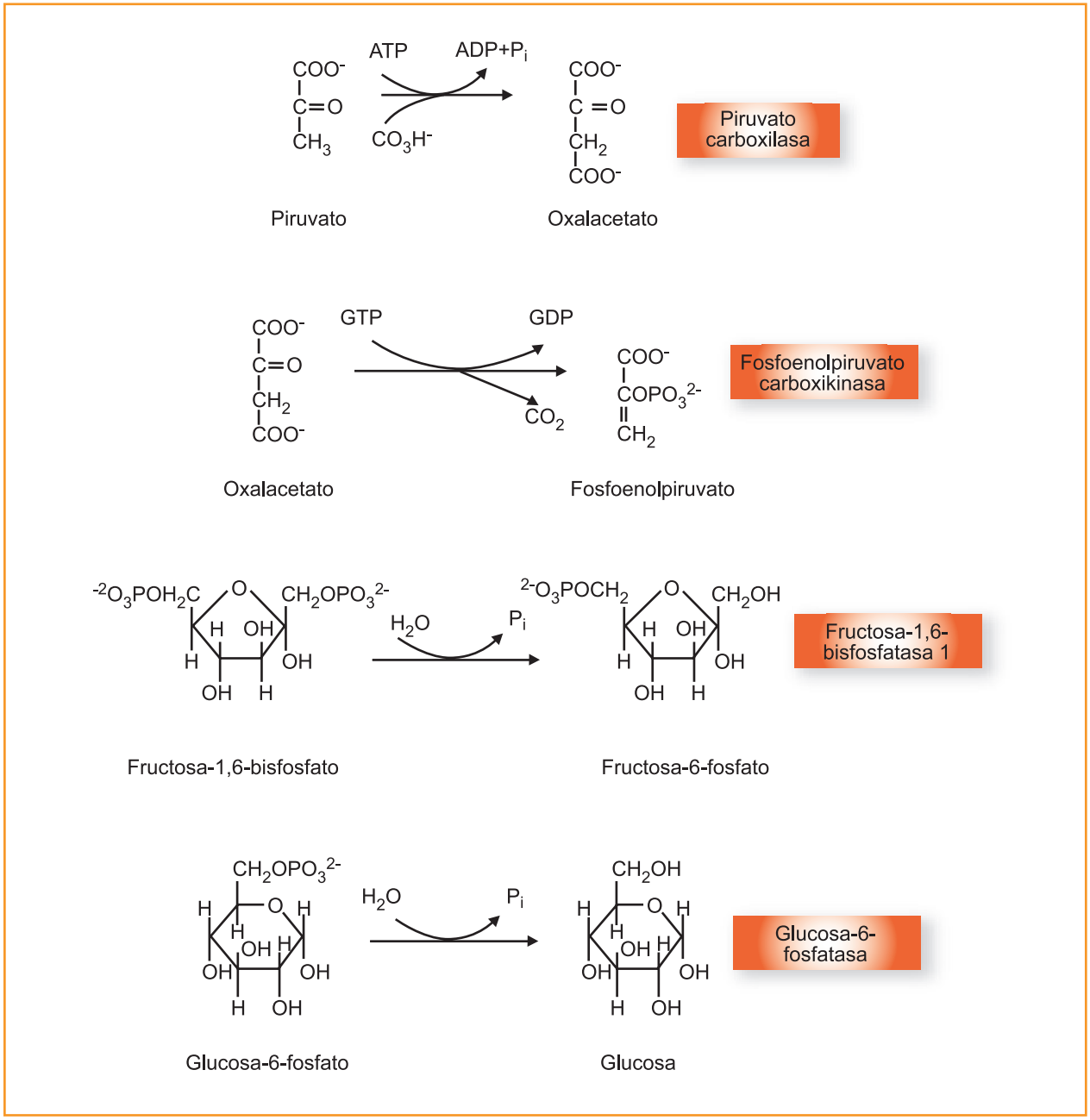


Figura 6. *Reacciones específicas de la gluconeogénesis.*

Al hacer un balance de la conversión de piruvato a fosfoenolpiruvato, se deduce que tiene un alto coste energético, ya que se consume un ATP en la carboxilación del piruvato y un GTP en la descarboxilación para originar el fosfoenolpiruvato. Esta secuencia de carboxilación-descarboxilación tiene como finalidad activar el piruvato para formar el fosfoenolpiruvato.

2.6.1.2. Conversión de fructosa-1,6-bisfosfato en fructosa-6-fosfato

Esta reacción es la segunda de la glucólisis que no puede revertirse por ser muy exergónica, ya que está impulsada por la transferencia de fosfato del ATP. La reacción que tiene lugar en la gluconeogénesis es simplemente una reacción hidro-

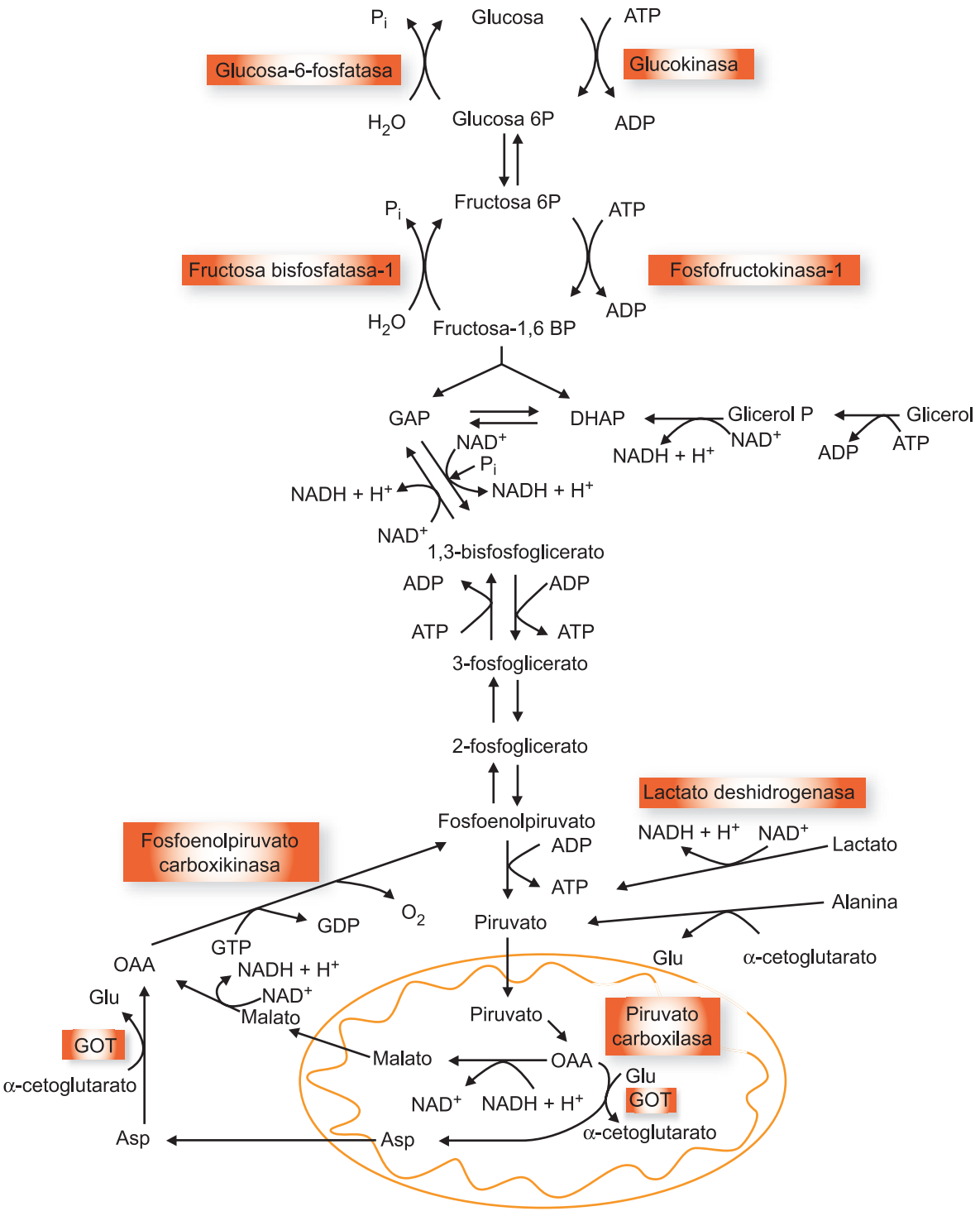


Figura 7. *Esquema global de la glucólisis y la gluconeogénesis.*

lítica en la que se libera fosfato inorgánico. Esta reacción está catalizada por la fructosa-1,6-bisfosfatasa, se requiere Mg^{++} como cofactor y en ella se forma fructosa-6-fosfato. La fructosa-1,6-bisfosfatasa constituye el punto de control más importante en la ruta gluconeogénica, se activa por ATP y citrato y se inhibe por AMP y fructosa-2,6-bisfosfato.

2.6.1.3. Obtención de glucosa libre

La última de las etapas gluconeogénicas consiste en la formación de glucosa libre a partir de glucosa-6-fosfato en una reacción catalizada por la glucosa-6-fosfatasa (G6Pasa). Esta enzima está localizada en la cara interna de la membrana del retículo endoplasmático y para ser estable ha de estar unida a una proteína que a su vez se une a Ca^{++}. La glucosa-6-fosfato se sintetiza en el citosol, por lo que debe ser transportada al lumen del retículo endoplásmico. Tanto la entrada de glucosa-6-fosfato como la salida de glucosa y P_i requieren la presencia en la membrana de transportadores específicos.

Recientemente, se ha descrito que la glucosa-6-fosfatasa cataliza también la formación de glucosa-6-fosfato a partir de glucosa y pirofosfato y que forma parte de un sistema multienzimático más complejo que participa en la regulación de los niveles de glucosa-6-fosfato.

Es importante recordar que sólo el hígado y la corteza renal pueden liberar glucosa, ya que son los únicos tejidos que poseen glucosa-6-fosfatasa y pueden, por tanto, sintetizar glucosa libre tanto a partir de sustratos no glucídicos como a partir de glucógeno. De este modo, pueden mantener la glucemia, suministrando glucosa a los tejidos que dependen de ella. Los demás tejidos finalizan la gluconeogénesis en la obtención de glucosa-6-fosfato, que se utiliza principalmente para la obtención de glucógeno.

2.6.2. Sustratos gluconeogénicos

Los sustratos gluconeogénicos más importantes desde el punto de vista fisiológico son el lactato, la alanina y el glicerol.

El lactato es el sustrato gluconeogénico cuantitativamente más importante, se origina en los tejidos que tienen un metabolismo glucolítico anaerobio, especialmente en el músculo esquelético. El lactato que es captado por el hígado se oxida por la lactato deshidrogenasa y se convierte en piruvato, que es convertido en glucosa por la gluconeogénesis. En la etapa de recuperación del ejercicio violento se activa especialmente este proceso, ya que forma parte del llamado ciclo de Cori. Este ciclo consiste en la formación a partir de lactato de glucosa que es liberada a la sangre para posteriormente ser captada y almacenada en forma de glucógeno por las células musculares. En la etapa de recuperación del ejercicio se produce una gran actividad respiratoria y se obtiene ATP, que se emplea en la síntesis de glucógeno.

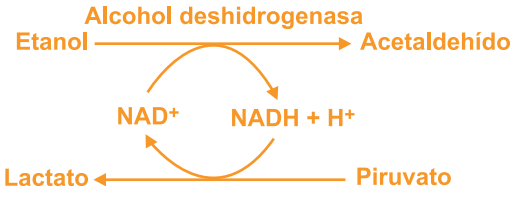
Otro de los sustratos fisiológicamente importantes es la alanina, que se origina en los tejidos periféricos a partir de piruvato. La alanina se convierte de nuevo en piruvato para, mediante gluconeogénesis, originar glucosa, la cual puede volver al torrente sanguíneo y ser captada por el músculo que la almacena como glucógeno. Éste es un ciclo semejante al de Cori, conocido como ciclo glucosa-alanina.

Al igual que la alanina, otros muchos aminoácidos pueden ser sustratos gluconeogénicos, ya que en su degradación originan intermediarios del ciclo de Krebs que pueden, a su vez, convertirse en oxalacetato. De hecho, de los 20 aminoácidos que se encuentran en las proteínas, tan sólo las rutas catabólicas de la leucina y la lisina no generan precursores gluconeogénicos. La glutamina es un sustrato especialmente importante para la gluconeogénesis renal que tiene lugar en la acidosis metabólica, con el fin de mantener el pH y eliminar protones como sales amónicas. También la glutamina es un sustrato gluconeogénico cuando el hígado está alterado y no funciona adecuadamente (*ver Capítulo 1.14*).

Los triacilgliceroles almacenados en el tejido adiposo originan ácidos grasos y glicerol cuando se hidrolizan. Aunque los ácidos grasos de número par de átomos de carbono no son gluconeogénicos, el glicerol que se libera sí lo es. De hecho, el glicerol llega al hígado y se fosforila a glicerol-3-fosfato por la glicerol kinasa. Posteriormente, se deshidrogena por la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa y origina dihidroxiacetona-fosfato, que ingresa en la gluconeogénesis a nivel de triosas **(Figura 6)**.

2.6.3. Consumo de etanol y gluconeogénesis

El etanol no es un sustrato gluconeogénico. Al contrario, su consumo inhibe la gluconeogénesis y puede provocar hipoglucemia. El etanol se metaboliza en el hígado principalmente por la alcohol deshidrogenasa, que utiliza NAD^+ como coenzima, originando NADH. El aumento en NADH eleva la relación $NADH/NAD^+$, desplazando hacia la izquierda las reacciones de la lactato deshidrogenasa, la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y la malato deshidrogenasa. En estas condiciones, no están disponibles para la gluconeogénesis ni el piruvato ni el oxalacetato y, por lo tanto, la gluconeogénesis estará inhibida.



2.6.4. Gluconeogénesis renal y acidosis metabólica

La acidosis metabólica es un desequilibrio ácido básico en el que el pH del suero es menor de 7,35, la concentración de H^+, mayor de 40 mEq/l y el bicarbonato sérico, menor de 25 mEq/l. La acidosis puede deberse bien a disminución de bicarbonato, por la pérdida de dicho ión por el riñón o el colon, o bien a la aparición de otros ácidos (láctico, β-hidroxibutírico, cetoacético) en concentraciones anormales en el plasma.

En condiciones normales, la glutamina no se metaboliza en el riñón, aunque sí en distintos tejidos, como el hígado, el cerebro, los linfocitos, el epitelio intestinal, etc. En el riñón, un porcentaje relativamente alto (20%) de la glutamina plasmática es filtrado constantemente por los glomérulos, entra en la nefrona y, a continuación, se reabsorbe, para volver a entrar en la circulación. En la acidosis metabólica, la glutamina es metabolizada en el riñón con el fin de producir NH_3. Para que esta metabolización se produzca, la glutamina es transportada al interior de la mitocondria, utilizando un transportador específico para glutamina y asparragina. Una vez en la mitocondria, es transformada por la glutaminasa en NH_3 y glutamato. El NH_3 se exporta hacia el lumen del túbulo colector, donde se combina con un H^+, originando NH_4^+, que se elimina por la orina como sales amónicas. El H^+ procede del ácido carbónico, que se disocia en ión bicarbonato (HCO_3^-) y H^+. Los iones bicarbonato producidos son liberados al torrente sanguíneo, con el fin de compensar la acidosis metabólica. El esqueleto carbonado del glutamato se transforma en α-cetoglutarato por acción de la glutamato deshidrogenasa y, posteriormente, es convertido en glucosa. Los pasos limitantes en este proceso son el transporte al interior de la mitocondria y el catalizado por la glutaminasa. La gluconeogénesis renal en condiciones de acidosis es muy importante, llegando a producir hasta el 50% de la glucosa circulante.

El incremento en la degradación de la glutamina en la acidosis metabólica es el resultado del incremento de la liberación de glutamina al plasma por el hígado, del transporte de la glutamina al interior de la célula y de la mitocondria, y de la inducción de la glutaminasa, como consecuencia de la estabilización de su RNA mensajero. Además, se produce la activación de la α-cetoglutarato deshidrogenasa y de la fosfoenolpiruvato carboxikinasa. El incremento de la actividad de esta última enzima es producto de la inducción de transcripción del gen que la codifica. En resumen, en condiciones de acidosis metabólica se induce la gluconeogénesis renal (*ver Capítulo 1.14, Figura 12*).

2.7. Regulación coordinada de la glucólisis y de la gluconeogénesis

Los procesos de glucólisis y de gluconeogénesis son procesos opuestos en los que la mayoría de las reacciones tienen lugar en el citosol. Es necesario que los dos procesos se encuentren regulados de forma recíproca, para asegurar que no se produzcan ciclos de sustrato. Las etapas reguladas en ambas rutas son las que catalizan reacciones irreversibles.

Se analiza a continuación la regulación de la glucólisis y la gluconeogénesis en el hígado. Ésta regulación se lleva a cabo fundamentalmente mediante efectores alostéricos y de hormonas. Estas últimas actúan modificando tanto la actividad de las enzi-

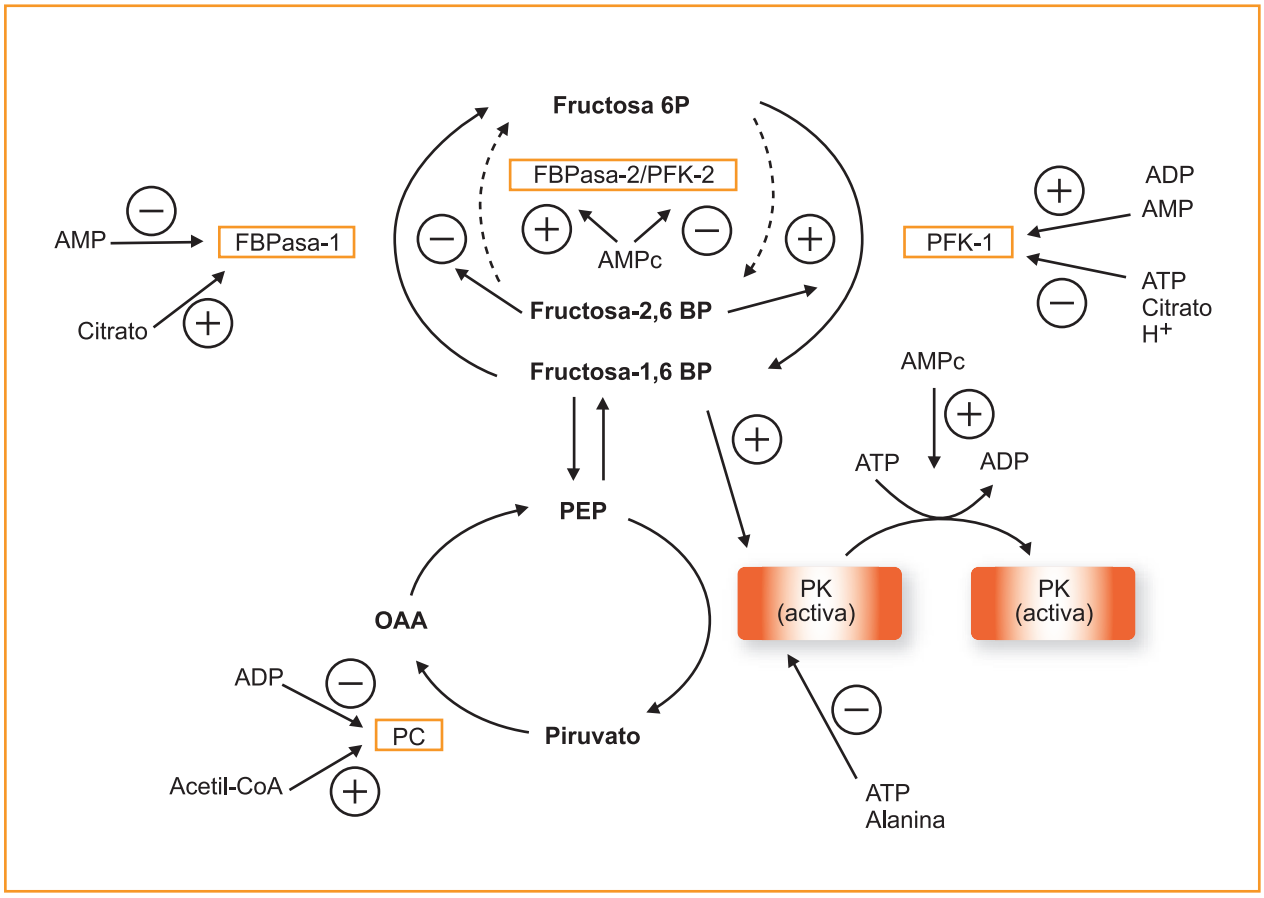


Figura 8. *Regulación de la actividad de las enzimas reguladoras de la glucólisis y de la gluconeogénesis.*

mas reguladoras, por modificación covalente, como su expresión génica. Es interesante añadir que se conocen ya mecanismos que indican que los hidratos de carbono de la dieta pueden modular directamente la actividad y la cantidad de enzimas (*ver Capítulo 1.31*).

2.7.1. Regulación alostérica

2.7.1.1. Regulación del ciclo fructosa-6-fosfato/fructosa-1,6-bisfosfato

La regulación de la glucólisis y de la gluconeogénesis se lleva a cabo principalmente a nivel del ciclo fructosa-6-fosfato/fructosa-1,6-bisfosfato. Las enzimas que catalizan esta reacción en los dos sentidos, glucolítico (fosfofructokinasa-1) y gluconeogénico (fructosa-1,6-bisfosfatasa-1), son las que soportan el mayor peso en el control de ambas rutas.

En líneas generales, y como ya se ha comentado, la glucólisis tiene lugar cuando la carga energética está baja, es decir, cuando los niveles de AMP están elevados. Por el contrario, la gluconeogénesis se activa cuando la carga energética está elevada **(Figura 8)**.

Tanto el AMP como el ADP son activadores alostéricos de la fosfofructokinasa-1. Además, y como consecuencia, aumentan la concentración de fructosa-1,6-bisfosfato que, a su vez, es un activador de la piruvato kinasa. Por otra parte, el AMP también inhibe a la fructosa-1,6-bisfosfosfatasa-1. Consecuentemente, el AMP activa la ruta en sentido glucolítico. Cuando hay gran cantidad de energía en la célula, por degradación de los ácidos grasos que llegan al hígado procedentes del tejido adiposo, disminuye el nivel de AMP, por lo que desaparece su efecto activador sobre la fosfofructokinasa-1 e inhibidor sobre la fructosa-1,6-bisfosfatasa, y se activa la ruta en sentido gluconeogénico.

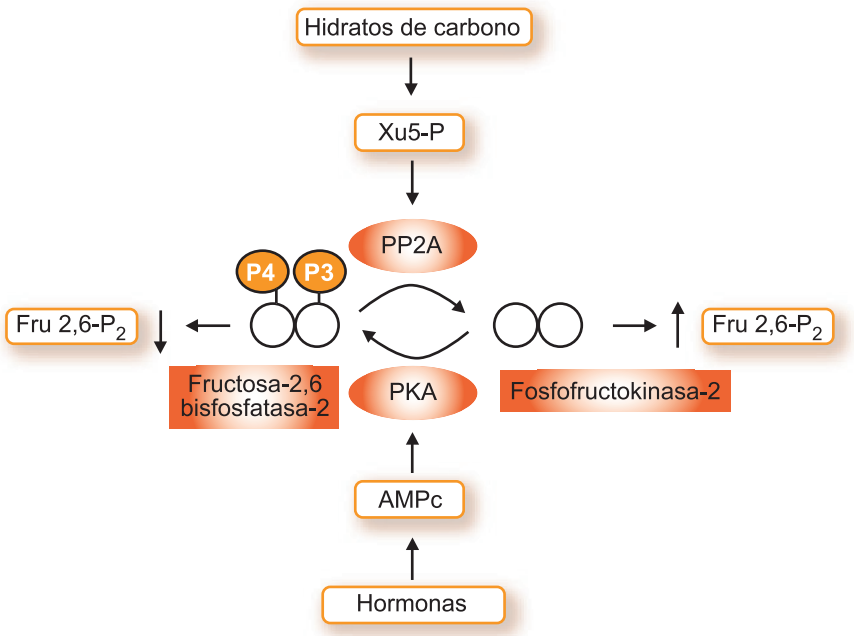


Figura 9. *Regulación de la expresión de genes de las enzimas gluconeogénicas por hormonas.*

Otro modulador alostérico es el ATP, que se comporta como un inhibidor de la fosfofructokinasa-1 y, por tanto, de la gluconeogénesis. Esta inhibición se refuerza cuando el nivel energético se eleva en la célula y como consecuencia se frena el ciclo de Krebs. Esto da lugar a un incremento en el nivel de citrato, que se acumula y sale de la mitocondria, inhibiendo también la actividad de la fosfofructokinasa-1. Además, al inhibirse en estas condiciones esta enzima, disminuye el nivel de fructosa-1,6-bisfosfato, activador alostérico indispensable para la isoenzima L de la piruvato kinasa, por lo que la actividad de ésta disminuye. Por lo tanto, la elevación de los niveles de ATP y de citrato incrementa la velocidad de la gluconeogénesis y disminuye la de la glucólisis.

Aunque no es un metabolito intermediario de la glucólisis ni de la gluconeogénesis, se considera el fructosa-2,6-bisfosfato como el principal regulador del flujo de carbono a través de estas vías en el hígado. Este modulador alostérico activa la fosfofructokinasa-1 e inhibe la fructosa-1,6-bisfosfatasa-1, por lo que tiene el efecto de activar la glucólisis e inhibir la gluconeogénesis.

La síntesis de fructosa-2,6-bisfosfato se lleva a cabo a partir de fructosa-6-fosfato por una enzima bifuncional, la fosfofructokinasa-2. La actividad de la fosfofructokinasa-2 se regula por fosforilación y desfosforilación reversible. La forma no fosforilada de la enzima posee actividad kinasa (fosfofructokinasa-2) y, por lo tanto, eleva los niveles de fructosa-2,6-bisfosfato. Por el contrario, la forma fosforilada posee actividad fosfatasa (fructosa-bisfosfatasa-2) y, como consecuencia, disminuye los niveles de fructosa-2,6-bisfosfato.

La fosforilación/desfosforilación de la fosfofructokinasa-2 se regula por hormonas (glucagón y adrenalina) y por la concentración de glucosa. En el primer caso, se produce un incremento de los niveles de AMP cíclico que, a través de la acción de la proteína kinasa A, dependiente de AMPc, produce la fosforilación de la fosfofructokinasa-2 y como consecuencia una disminución de los niveles de fructosa-2.6-bisfosfato y la consiguiente activación de la gluconeogénesis (*ver apartado 2.7.2.1*). Por su parte, la glucosa actúa activando la fosfoproteína fosfatasa 2A (PP2A) que desfosforila la enzima bifuncional fosfofructokinasa-2/fructosa-1,6-bisfosfatasa-2 y activa la vía glucolítica **(Figura 9)**.

Recientemente, se ha descrito que la glucosa no activa directamente la fosfoproteína fosfatasa 2A,

sino que lo hace a través de la xilulosa-5-fosfato que es un intermediario de la ruta no oxidativa de las pentosas fosfato. Así, la xilulosa-5-fosfato controlaría la síntesis de la fructosa-2,6-bisfosfato, el modulador alostérico más importante de la glucólisis. Este hecho acentúa el control coordinado de estas dos vías de degradación de glucosa.

2.7.1.2. Regulación de la interconversión fosfoenolpiruvato/piruvato

Otra de las etapas bien reguladas de los procesos de glucólisis/gluconeogénesis es la de la interconversión fosfoenolpiruvato/piruvato en el hígado y la corteza renal. Las enzimas que catalizan esta reacción son la piruvato kinasa, en el sentido glucolítico, y la piruvato carboxilasa y fosfoenolpiruvato carboxikinasa, en el gluconeogénico **(Figura 8)**.

La isoenzima hepática (L) de la piruvato kinasa es regulada por la fructosa-1,6-bisfosfato, el ATP y la alanina. De esta manera, esta isoenzima, que tiene una cinética sigmoidal para su sustrato, siendo prácticamente inactiva a concentraciones fisiológicas de fosfoenolpiruvato y en ausencia de fructosa-1,6-bisfosfato, se activa en presencia de fructosa-1,6-bisfosfato y su cinética pasa a ser hiperbólica, siendo activa a concentraciones fisiológicas de fosfoenolpiruvato. De esta forma, la fosfofructokinasa-1, que cataliza la síntesis de fructosa-1,6-bisfosfato, controla la actividad de la piruvato kinasa.

Tanto el ATP como la alanina, que se obtiene a partir de piruvato por transaminación, inhiben alostéricamente la piruvato kinasa.

2.7.1.3. Regulación de la piruvato carboxilasa

La piruvato carboxilasa es otra enzima reguladora de la gluconeogénesis. Se activa por acetil-CoA y se inhibe por ADP. El acetil-CoA se acumula cuando el ciclo de Krebs es deficitario en oxalacetato, lo que activa su síntesis a partir de piruvato en la reacción catalizada por la piruvato carboxilasa.

2.7.2. Regulación hormonal

La regulación hormonal de la actividad de las enzimas implicadas en los procesos de glucólisis/gluconeogénesis se lleva a cabo por glucagón y adrenalina (*ver Capítulo 1.5*), que activan la gluconeogénesis, y por la insulina, que activa la glucólisis. La regulación hormonal de la glucólisis y la gluconeogénesis es ejercida tanto a nivel de actividad enzimática, mediante regulación covalente por fosforilación-desfosforilación de las enzimas, como a nivel génico, mediante regulación de la expresión génica de las distintas enzimas.

2.7.2.1. Regulación de la actividad enzimática

En el hígado el glucagón y la adrenalina se unen a receptores específicos y, a través de las proteínas G, activan la adenilato ciclasa, con lo que los niveles de AMPc se elevan y con ello se activa la proteína kinasa A (dependiente de AMPc). Asimismo, la adrenalina, al unirse a sus receptores α_1-adrenérgicos, puede activar la fosfolipasa C y producir una elevación en los niveles de Ca^{++} citosólico, lo que activa la calmodulina (*ver Capítulo 1.5*).

Como ya se ha indicado anteriormente, la proteína kinasa A, activada por el glucagón y la adrenalina, fosforila la enzima bifuncional fosfofructokinasa-2/fructosa-2,6-bisfosfatasa-2 (PFK-2/FBPasa-2). Cuando la enzima se fosforila, actúa como fosfatasa (fructosa-2,6-bisfosfatasa-2), con lo que se hidroliza la fructosa-2,6-bisfosfato, se frena la glucólisis y se incrementa la velocidad de la gluconeogénesis **(Figura 8)**.

La proteína kinasa A regula también otro de los puntos de control de la glucólisis/gluconeogénesis hepática, al catalizar la fosforilación de la L-piruvato kinasa. La forma desfosforilada sólo es activa en presencia de fructosa-1,6-bisfosfato, mientras que la forma fosforilada es inactiva e independiente de fructosa-1,6-bisfosfato. Por lo tanto, la fosforilación de la enzima por la proteína kinasa A origina la forma inactiva en condiciones fisiológicas, con lo que se frena la glucólisis, utilizándose el fosfoenolpiruvato como sustrato gluconeogénico. También el Ca^{++}, liberado por la adrenalina al unirse a sus receptores α_1-adrenérgicos en el hígado, se une a una proteína denominada calmodulina, una proteína kinasa dependiente de calcio, que fosforila la piruvato kinasa y origina la forma inactiva.

Por otra parte, la insulina provoca la inhibición de la gluconeogénesis y la activación de la glucólisis por distintos mecanismos. En primer lugar, activa una proteína denominada fosfoproteína fosfatasa-1,

que a su vez desfosforila la fosfofructokinasa-1, activando la forma kinasa de la enzima y dando lugar a un aumento del nivel de fructosa-2,6-bisfosfato. Además, la insulina inhibe la gluconeogénesis hepática disminuyendo los niveles de AMPc por incremento de la fosfodiesterasa, con lo que no se activa la proteína kinasa A.

La insulina también actúa por un mecanismo indirecto, provocando la inhibición de la degradación de proteínas musculares, lo que disminuye la disponibilidad de aminoácidos libres como sustratos gluconeogénicos. Además, activa la entrada de aminoácidos y la síntesis de proteínas en el músculo. Por último, la insulina puede ejercer su acción suprimiendo la liberación de glucagón.

2.7.2.2. Regulación de la expresión génica

Además de estas formas de regulación a corto plazo, el glucagón y la insulina ejercen un control a más largo plazo sobre la síntesis enzimática. El glucagón, al elevar los niveles de AMPc, y mediante la consiguiente activación de la proteína kinasa A, induce la síntesis de enzimas gluconeogénicas. La insulina, por el contrario, induce la síntesis de enzimas glucolíticas y reprime la de enzimas gluconeogénicas, ejerciendo su acción a través de diferentes factores de transcripción (*ver Capítulo 1.7*).

a) Regulación de la expresión génica mediada por glucagón y glucocorticoides. La inducción de las enzimas gluconeogénicas por el glucagón se consigue a través de una proteína denominada CREB (proteína de unión al CRE, elemento de respuesta a AMPc en el DNA) que se fosforila por la proteína kinasa A. Esta CREB tiene un motivo estructural de unión a DNA de cremallera de leucina que cuando se fosforila se dimeriza y se une a coactivadores (p 300 y CEB, proteína de unión a CREB). De esta forma, interacciona con secuencias específicas de DNA denominadas CRE situadas en el promotor activando la transcripción de los genes correspondientes y activando en último término la gluconeogénesis.

Parece ser que CREB puede actuar de dos modos distintos: en el ayuno temprano CREB induce la expresión de genes correspondientes a algunas enzimas gluconeogénicas, entre ellas, la fosfoenolpiruvato carboxikinasa, uniéndose directamente a su promotor **(Figura 10)**. Por otra parte, se ha demostrado que en el ayuno prolongado en ratas, CREB potencia la expresión de genes gluconeogénicos no de forma directa sino induciendo la expresión del receptor nuclear coactivador PGC-1α (***P**eroxisome proliferative activated receptor-*γ ***C**oactivator*), que, a su vez, interacciona con otros factores de transcripción (receptores de glucocorticoides, HNF-4α o FOXO-1), estimulando la expresión de genes gluconeogénicos (fosfoenolpiruvato carboxikinasa y glucosa-6-fosfatasa) **(Figura 10)**.

b) Regulación de la expresión génica mediada por insulina. Se sabe que la insulina es capaz de modular la expresión a nivel transcripcional de más de 100 genes en mamíferos. Concretamente, en el hígado la insulina modula la transcripción de la mayoría de las enzimas metabólicas. La insulina produce la activación de la transcripción de todos los genes que regula excepto la de las enzimas gluconeogénicas, que se inhibe. De hecho, se ha descrito que la insulina inhibe la transcripción de la fosfoenolpiruvato carboxikinasa, glucosa-6-fosfatasa y de la proteína de unión al factor de crecimiento semejante a insulina (IGFBP-1).

La acción directa de la insulina sobre la expresión génica se ha asociado con la presencia, en el promotor de los genes que regula, de una secuencia consenso denominada IRE (***I**nsulin **R**esponsive **E**lement*).

Las acciones represoras de la transcripción de la insulina están mediadas en gran parte por la fosfatidilinositol-3-kinasa (P_i 3-kinasa) (*ver Capítulo 1.5*). Varios grupos han indicado que, además, está implicada la proteína kinasa B (PKB). El mecanismo ha sido ampliamente descrito para factores de transcripción de la familia de FKHR, entre ellos el FOXO-1. Estos factores de transcripción activan la expresión de enzimas gluconeogénicas mediante su unión a IRE. En respuesta a insulina, FOXO-1 es fosforilado en el hepatocito por la proteína kinasa B en tres lugares diferentes. Esta fosforilación interrumpe su interacción con PGC-1α y provoca su expulsión del núcleo, inhibiendo la expresión de sus genes diana. Así, se inhibe la expresión de la fosfoenolpiruvato carboxikinasa y de la glucosa-6-fosfatasa y, por tanto, la gluconeogénesis.

La acción de la insulina se extiende al propio PGC-1α que, como se ha comentado en el apartado anterior, es un coactivador necesario para la expresión de genes gluconeogénicos. El promotor tiene varias secuencias IRE a las que se unen facto-

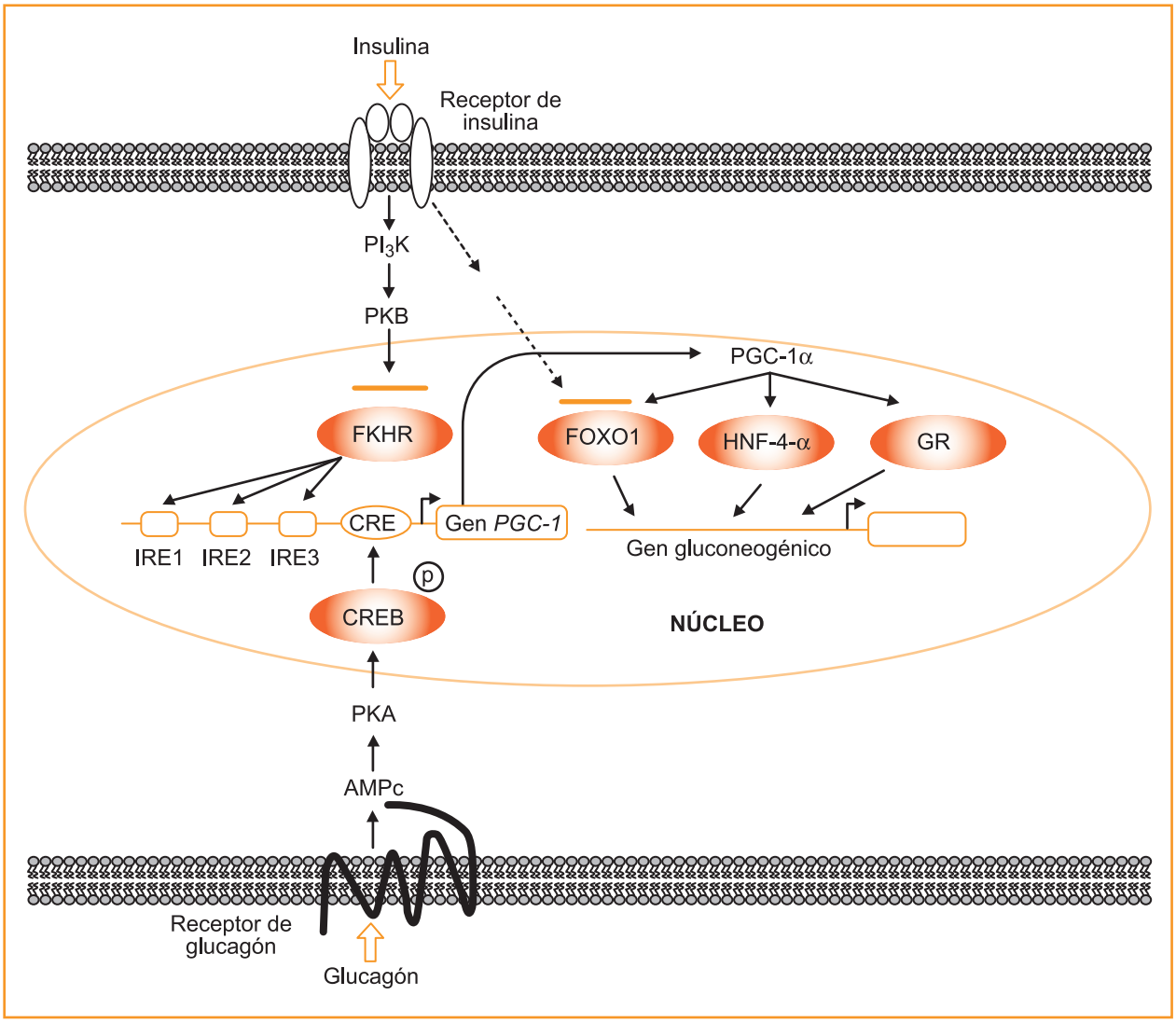


Figura 10. *Regulación por hidratos de carbono y hormonas de la enzima bifuncional fosfofructokinasa-2 y fructosa-2,6-bisfosfatasa-2.*

res de transcripción de la familia FKHR para estimular su expresión. De esta forma, la fosforilación de dichos factores por la proteína kinasa B reduce la expresión del propio PGC-1α.

Algunos de los efectos activadores de la insulina sobre la expresión de genes de enzimas glucolíticas y lipogénicas, están mediados por otro factor de transcripción, el SREBP-1c (***S**terol **Re**gulatory **B**inding **P**rotein-**1c***). Los factores de transcripción de la familia de los SREBP se encuentran normalmente fuera del núcleo, asociados a membranas. Al producirse el estímulo necesario se induce la proteólisis parcial del factor de transcripción, liberándose la forma madura que ya puede unirse en el núcleo a sus elementos de respuesta denominados SRE (***S**REBP **R**esponse **E**lement*). En el hígado de rata y de ratón, se ha demostrado que la expresión y la presencia de la forma madura del SERBP-1c en el núcleo se incrementa cuando animales en ayuno se alimentan con una dieta rica en hidratos de carbono.

En efecto, la insulina aumenta la expresión del gen de la glucokinasa en el hígado y el mecanismo parece ser la inducción por la insulina del precursor del SREBP-1c y el incremento de su maduración. El incremento de la glucokinasa contribuye a rellenar los depósitos de glucógeno para proporcionar glucosa en periodo interprandial.

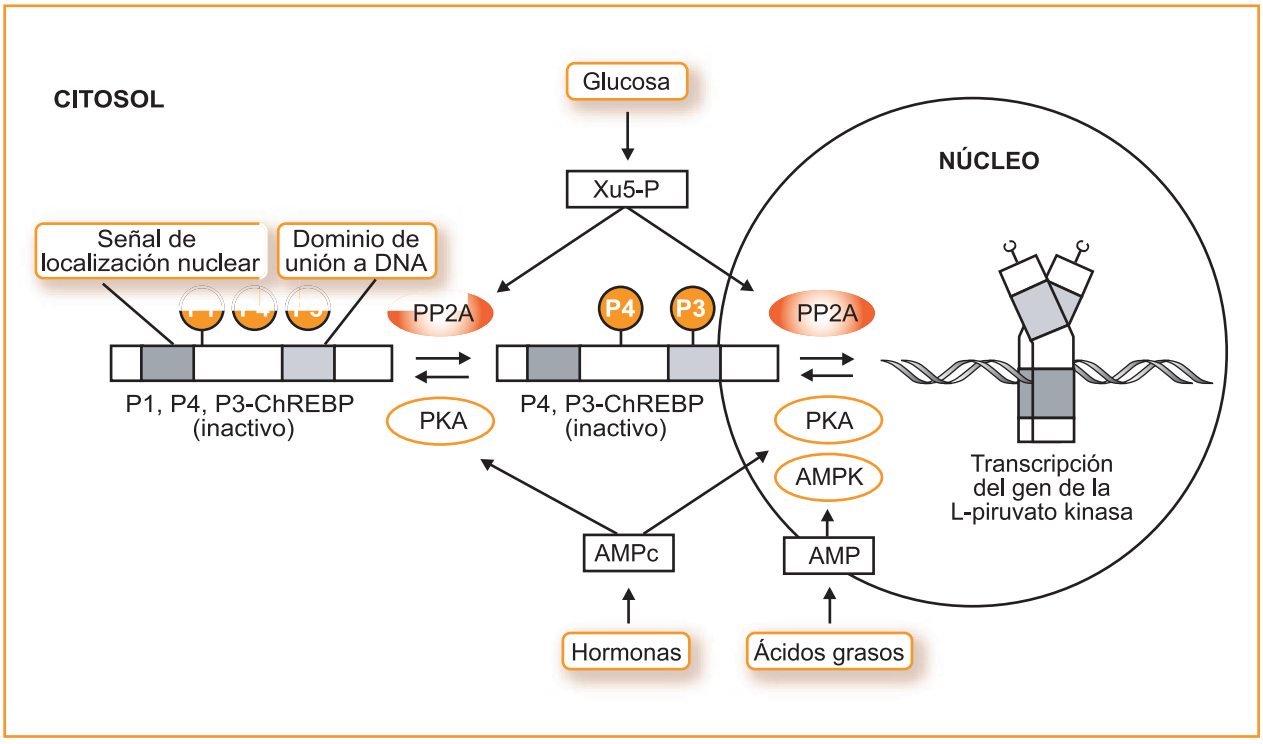


Figura 11. *Regulación de la expresión del gen de la L-piruvato kinasa por nutrientes y por hormonas.*

El SREBP-1c es también responsable del efecto inhibidor de la insulina sobre la expresión de genes gluconeogénicos, ya que reprime la expresión de genes inducidos a través de AMPc y glucocorticoides. En relación con la fosfoenolpiruvato carboxikinasa, se ha sugerido que existe una interacción entre SERBP-1c y CREBP, impidiendo la acción activadora de la transcripción de este último. Sin embargo, estos resultados han sido cuestionados recientemente. Por otra parte, la insulina tiene un efecto directo sobre los niveles de AMPc por su acción sobre la fosfodiesterasa.

c) Regulación de la expresión génica mediada por glucosa. La absorción de hidratos de carbono de la dieta es concomitante con un incremento en las concentraciones de glucosa y de lactato, y también con cambios en los niveles de glucagón e insulina. Hasta ahora se pensaba que insulina y glucagón eran los únicos que regulaban la transcripción de estos genes. Si embargo, se ha demostrado, en cultivos de hepatocitos primarios, que los mismos nutrientes juegan un papel importante en la regulación de la transcripción, independientemente de las hormonas (*ver Capítulo 1.31*).

Concretamente, se ha demostrado que la expresión del gen de la L-piruvato kinasa es estimulada por glucosa, independientemente de la insulina, en cultivos que expresan glucokinasa. El gen de la L-piruvato kinasa tiene un elemento de respuesta a glucosa que contiene dos cajas E imperfectas separadas por cinco bases. El factor de transcripción que interacciona con estas secuencias se ha identificado y se conoce como ChREBP (proteína de unión al elemento de respuesta hidratos de carbono). Se trata de una proteína grande y que contiene varios dominios: una señal de localización nuclear (NLS) cerca del extremo N-terminal, dominios de poliprolina y una cremallera de leucina. Además, contiene varios sitios potenciales de fosforilación para proteína kinasa A y proteína kinasa activada por AMP (AMPK) **(Figura 11)**. La fosforilación por la proteína kinasa A de ChREBP se produce en tres sitios (P1, P3 y P4), que juegan un papel fundamental en su activación por glucosa y en la inhibición por AMPc y AMP.

La glucosa puede activar a la fosfoproteína fosfatasa-2 (PP2A) vía xilulosa-5-fosfato, que a su vez desfosforila en el citoplasma el sitio P1 de ChREBP, lo que activa el transporte de ChREBP al núcleo.

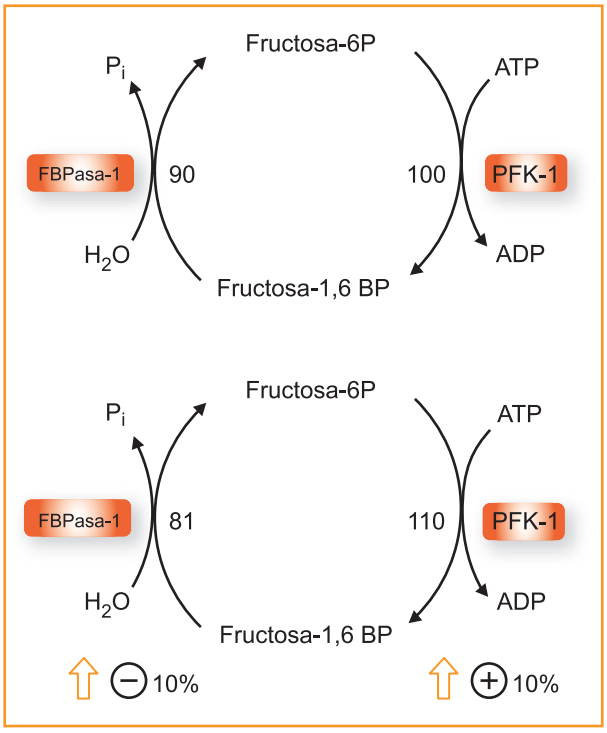


Figura 12. *Ciclos de sustrato.*

Una vez que el ChREBP está localizado en el núcleo, la glucosa activa a la forma inactiva de ChREBP (P4 y P3- ChREBP) por desfosforilación del sitio P3 catalizada por la PP-2A nuclear. Por último, el ChREBP, que se ha desfosforilado, se une al ChRE de la L-piruvato kinasa y activa la transcripción.

La unión de la forma activa de ChREBP al DNA puede ser inhibida por los ácidos grasos, mediante fosforilación del sitio P4 a través del incremento del nivel de AMP/ATP en hepatocitos, lo que activa la proteína kinasa activada por AMP (AMPK), que fosforila el sitio P4.

2.8. Ciclos de sustrato

Un ciclo de sustrato es el que se establece entre la reacción de síntesis y la de degradación de un metabolito catalizadas por dos enzimas, una kinasa que fosforila a expensas de ATP, y una fosfatasa que retira el fosfato. Si estas reacciones no estuviesen bien reguladas, el balance neto sería la hidrólisis continua de ATP con liberación de energía en forma de calor.

Un ejemplo de ciclo de sustrato es el de la formación de fructosa-1,6-bisfosfato a partir de fructosa-6-fosfato y su hidrólisis para regenerar la fructosa-6-fosfato. Estas reacciones no son totalmente activas al mismo tiempo, sino que están controladas mediante mecanismos de control alostérico de forma coordinada. No obstante, se ha demostrado que tanto en condiciones glucolíticas como gluconeogénicas las dos reacciones se están llevando a cabo. A estos ciclos que se producen y parecen ser un fallo de regulación, se les llamó ciclos fútiles o inútiles. Sin embargo, se ha demostrado que tienen un papel amplificador de los mecanismos de regulación.

Por ejemplo, en el caso de la reacción catalizada por la fosfofructokinasa-1 y la fructosa-1,6-bisfosfatasa-1 se puede considerar una situación en la que la reacción catalizada por la fosfofructokinasa funcione a una velocidad de 100, y la catalizada por la fructosa-1,6-bisfosfatasa-1 a una velocidad de 90; el flujo neto de la vía en sentido glucolítico sería de 10 **(Figura 12)**. Si un modulador alostérico activa la fosfofructokinasa en un 10% y en el mismo grado inhibe a la fructosa-1,6-bisfosfatasa-1, las velocidades serían de 110 en el sentido glucolítico y de 81 en el gluconeogénico, por tanto el flujo neto sería de 29, por lo que la señal se habría amplificado en un 190%. Esto podría explicar el incremento considerable de activación de una ruta que por el mero control alostérico no podría justificarse.

La utilidad de estos ciclos fútiles o inútiles se demuestra en la regulación de la glucólisis en el músculo en respuesta a la contracción muscular. De hecho, el ejercicio, es decir, la contracción muscular, aumenta la demanda de ATP, por lo que se debe aumentar la glucólisis. En efecto, al comienzo del ejercicio, los niveles de ATP y de AMP se modifican, lo que afecta a la fosfofructokinasa y a la piruvato kinasa, incrementando su actividad y, con ello, el flujo neto de glucólisis.

El otro efecto biológico de los ciclos de sustrato sería producir calor. Algunos insectos mantienen activas tanto la fosfofructokinasa como la fructosa-1,6-bisfosfatasa para mantener su temperatura corporal y, así, cuando tienen que volar en ambientes con temperaturas muy bajas, la hidrólisis continua de ATP genera calor. En estos casos, se ha demostrado que la fructosa-1,6-bisfosfatasa no se inhibe por AMP, lo que le hace ser muy adecuada para generar calor.

3. Metabolismo de otros monosacáridos

3.1. Fructosa

Aunque la glucosa es el monosacárido más abundante, también llega fructosa (libre o como sacarosa) al organismo en la dieta. La fructosa se absorbe más lentamente que la glucosa, aunque es captada y metabolizada más rápidamente por el hígado. Su efecto estimulante sobre la liberación de insulina es inferior al de la glucosa, y su captación es independiente de la misma.

La fructosa se metaboliza mediante su conversión en intermediarios de la vía glucolítica. En la mayor parte de los tejidos se fosforila por la hexokinasa hasta fructosa-6-fosfato, que es un intermediario glucolítico. En el hígado, sigue una ruta diferente, se fosforila para dar fructosa-1-fosfato en una reacción catalizada por la cetohexokinasa o fructokinasa. La fructosa-1-fosfato se escinde por la acción de la aldolasa B para dar lugar a dihidroxiacetona-fosfato y gliceraldehído. El gliceraldehído, para poderse metabolizar, tiene que fosforilarse por la triosakinasa originando gliceraldehído-3-fosfato, que ingresa junto con la dihidroxiacetona-fosfato en la vía glucolítica a nivel de triosas fosfato **(Figura 13)**.

Esta vía de utilización de fructosa evita la etapa de control de la fosfofructokinasa-1, lo que explica la rápida conversión de la sacarosa de la dieta en triacilgliceroles.

Se ha demostrado que la fructosa, administrada por vía endovenosa en personas sanas, puede provocar hiperuricemia y acidosis láctica. Estas observaciones han conducido a recomendar grandes precauciones en su administración parenteral. Los problemas de la administración endovenosa de fructosa pueden atribuirse a su rápido metabolismo hepático, que produce acúmulo de fructosa-1-fosfato, cuya metabolización posterior es mucho más lenta, por lo que se acumula. El acúmulo de fructosa-1-fosfato es tóxico para el hígado, ya que inhibe la degradación de glucógeno y puede provocar cambios importantes en la concentración de otros metabolitos.

El efecto hiperuricémico parece ligado al aumento de la degradación de nucleótidos de adenina por la activación de la AMP-desaminasa, el factor limitante en el catabolismo de los nucleótidos de adenina (entre ellos, el ATP) en el hígado. La enzima tiene como moduladores alostéricos el ATP, que es un potente activador, y el fosfato inorgánico y el GTP, que son inhibidores. A concentraciones fisiológicas de sustratos y efectores, la enzima está inhibida en un 95%. Sin embargo, el catabolismo de la fructosa hasta fructosa-1-fosfato hace que desciendan los niveles de fosfato inorgánico y de GTP, por lo que disminuye la inhibición. La inducción de hiperuricemia por fructosa no es un fenómeno inofensivo, dado que indica una elevada degradación de ATP. Además, se produce una elevación en los niveles del Mg^{++} plasmático, debido al descenso de ATP, que es su agente quelante. Hay también inhibición de la síntesis de proteínas y de RNA, desagregación de los ribosomas, interferencia en la síntesis de AMPc y en la destoxificación de amonio, así como lesiones en la ultraestructura de los ribosomas y proliferación del retículo endoplásmico en las células absortivas del yeyuno. La administración de fosfato podría revertir estos efectos, y efectivamente así se ha demostrado en la corteza renal, pero no en el hígado, posiblemente por una incapacidad para entrar dentro de este tejido.

La administración de fructosa endovenosa produce un incremento de los niveles de lactato plasmático muy superiores a los producidos por la administración de glucosa por la misma vía. Así, la glucosa puede llegar a producir una elevación del lactato plasmático de hasta el doble de los valores normales, mientras que la fructosa puede elevarlos hasta cinco veces. La rápida formación de lactato puede explicarse:

a) Por la mayor actividad de la fructokinasa en relación a la hexokinasa y glucokinasa para fosforilar la glucosa.

b) La fructólisis evita el punto de control más importante de la vía glucolítica: el catalizado por la fosfofructokinasa-1.

c) La estimulación de la piruvato kinasa por la fructosa-1-fosfato y la fructosa-1,6-bisfosfato.

El incremento de ácido láctico producido por la fructosa puede conducir a acidosis metabólica tanto en niños como en adultos. Se ha descrito la producción de acidosis láctica en niños cuyas madres han recibido fructosa durante el parto. En resumen, se puede llegar a la conclusión de que la fructosa es un mal sustituto para la glucosa en nutrición parenteral.

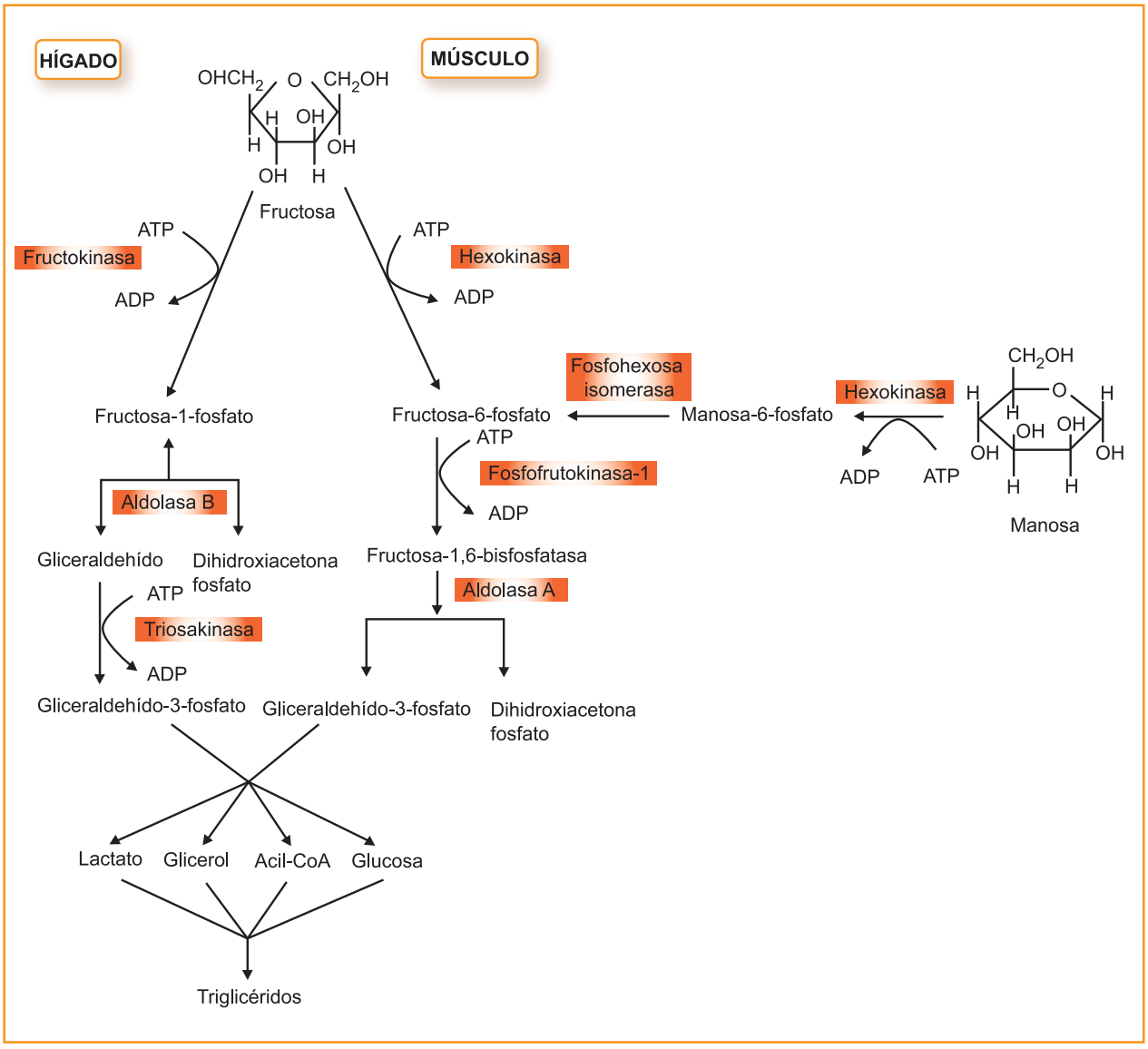


Figura 13. *Reacciones de interconversión de la fructosa, en el hígado y el músculo, y de la manosa.*

Uno de los aspectos más controvertidos de la administración oral de fructosa es su influencia sobre los lípidos séricos, en especial sobre los triacilgliceroles. Diversos estudios realizados en humanos indican que, mientras que en la mayoría de individuos normales y diabéticos la ingestión de fructosa no afecta significativamente a los niveles de triacilgliceroles, existe, sin embargo, una subpoblación especialmente sensible a la administración de fructosa por vía oral. Éste es un aspecto sobre el que habrá que profundizar antes de recomendar su inclusión en la dieta, particularmente, de diabéticos tipo 2.

3.2. Galactosa

La principal fuente de galactosa del organismo es la lactosa, que es el azúcar de la leche. El metabolismo de la galactosa transcurre a través de su conversión en glucosa **(Figura 14)**. La primera etapa de su metabolización es la formación de galactosa-1-fosfato, en una reacción catalizada por la galactokinasa. Esta enzima está presente en los glóbulos rojos y blancos y en el hígado. La enzima de los glóbulos rojos y del hígado se inhibe por sustrato y producto, lo que tenderá a disminuir la formación de galactosa-1-fosfato.

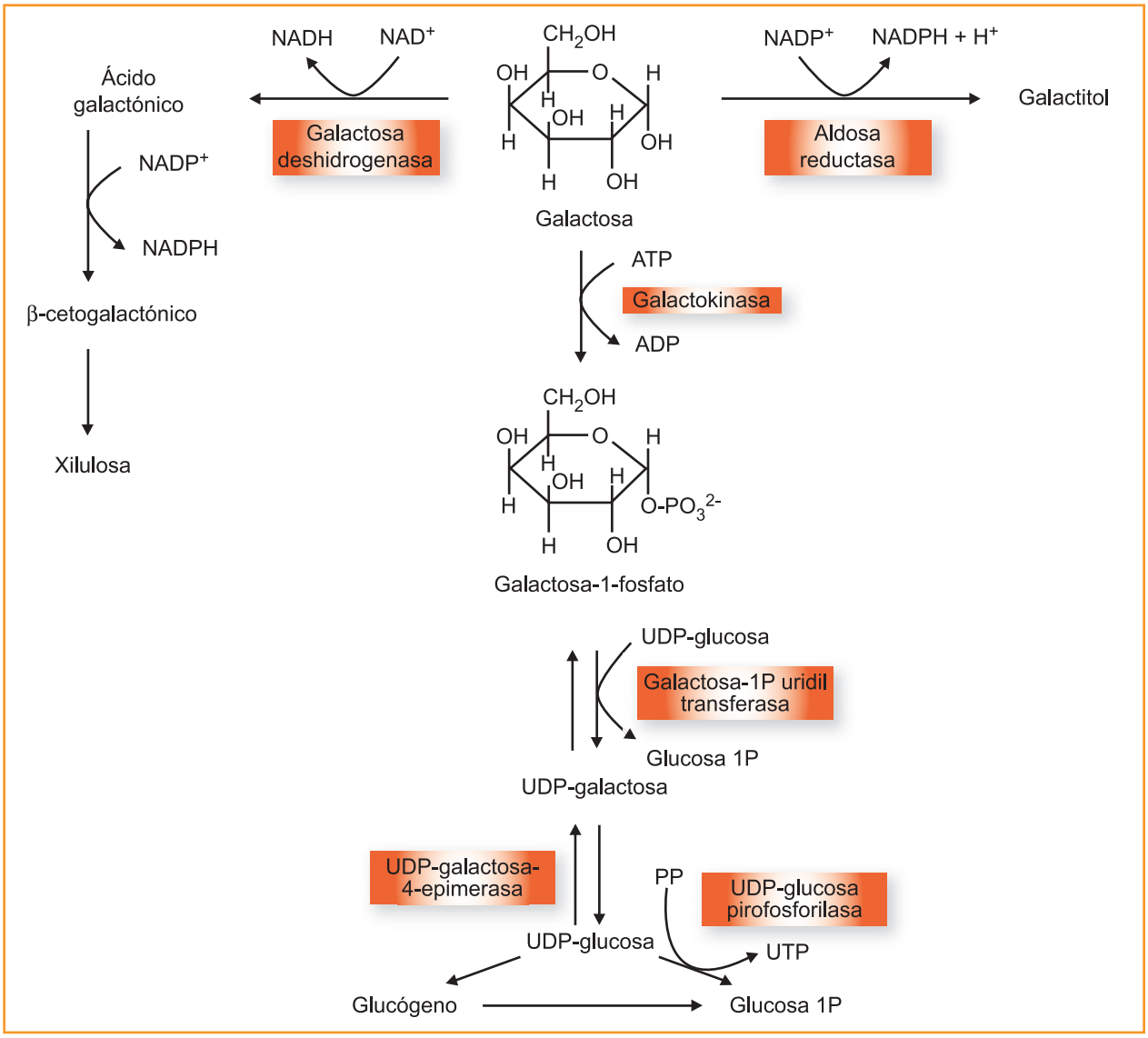


Figura 14. *Reacciones de interconversión de la galactosa.*

La siguiente etapa consiste en la formación de UDP-galactosa, a partir de galactosa-1-fosfato y UDP-glucosa, en reacción catalizada por la galactosa-1-fosfato-uridil transferasa. La enzima se encuentra presente en la mayoría de los tejidos de mamíferos y es inhibida por galactosa-1-fosfato.

En una etapa posterior, la UDP-galactosa se epimeriza a UDP-glucosa, en una reacción catalizada por la UDP-galactosa-4-epimerasa, cuyo coenzima es el NAD^+. La enzima cataliza la reacción en los dos sentidos y puede también utilizar como sustratos a la UDP-N-acetil-glucosamina o UDP-N-acetil-galactosamina. Su significación fisiológica es superior a la mera participación en el metabolismo de la galactosa, pudiendo afectar a la síntesis de receptores (p. ej., de LDL). En efecto, la formación de galactosa a partir de glucosa es de un gran interés cuando no se aporta externamente, ya que es necesaria para la formación de polisacáridos complejos. La siguiente etapa es la catalizada por la UDP-glucosa pirofosforilasa, que posibilita no sólo la obtención de glucosa-1P a partir de UDP-glucosa, sino también la formación de UDP-glucosa a partir de UTP y glucosa-1-fosfato.

Alternativamente, la galactosa puede convertirse en galactitol en una reacción catalizada por la

aldosa reductasa. Esta actividad está presente en el cristalino, en los nervios periféricos, en las células de Schwann y en la pápila renal. Otra ruta alternativa sería su oxidación a galactonato, que se acumula en el hígado y en otros tejidos.

Existe una enzima, descrita, en primer lugar, en levadura y, posteriormente, en el hígado de mamíferos (la uridín-difosfato-galactosa-pirofosforilasa), capaz de catalizar la formación de UDP-galactosa a partir de UTP y galactosa-1-fosfato. Durante algún tiempo se especuló con la posibilidad de que esta enzima, que tiene muy baja actividad en los recién nacidos, aumentara su participación en el metabolismo de la galactosa en la edad adulta, supliendo así la carencia de la transferasa en los galactosémicos. Sin embargo, esta hipótesis no parece sustentarse en la actualidad, dado que no se ha podido demostrar el aumento de su actividad en la edad adulta. Más probable parece que no exista ninguna proteína enzimática específica para la galactosa-1-fosfato, sino que se trate de la propia UDP-glucosa pirofosforilasa capaz de actuar también con la galactosa-1-fosfato como sustrato.

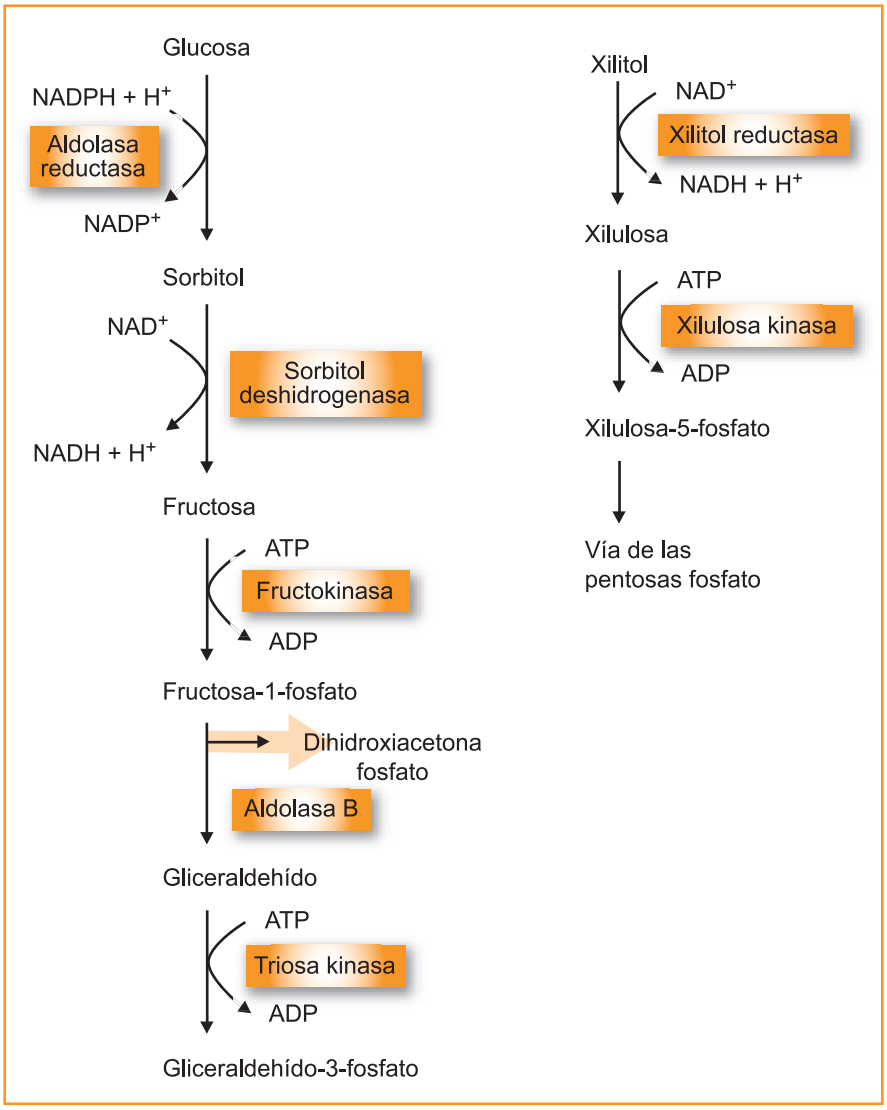


Figura 15. *Esquemas del metabolismo del sorbitol y xilitol.*

3.3. Manosa

La manosa procede de la digestión de polisacáridos y glicoproteínas, se fosforila por la hexokinasa a manosa-6-fosfato y, posteriormente, se isomeriza por la fosfohexosa isomerasa, dando lugar a fructosa-6-fosfato que ingresa en la vía glucolítica **(Figura 13)**.

4. Metabolismo de polialcoholes

4.1. Metabolismo del sorbitol

El sorbitol se puede obtener en diversos tejidos a partir de glucosa o fructosa, en una reacción catalizada por la aldosa reductasa, que utiliza como reductor al NADPH. En su catabolismo, el sorbitol se convierte en fructosa en la reacción catalizada por la sorbitol deshidrogenasa **(Figura 15)**. La fructosa puede posteriormente fosforilarse a fructosa-1-fosfato, por la cetohexokinasa en el hígado, o a fructosa-6-fosfato, por la hexokinasa en otros

tejidos y, así, incorporase a la ruta central del metabolismo glucídico.

4.2. Metabolismo del xilitol

El xilitol es el alcohol derivado de la xilulosa, y su metabolización hepática es semejante a la del sorbitol. El alcohol se convierte en xilulosa por la xilitol reductasa, y posteriormente se fosforila por la xilulokinasa. La xilulosa-5-fosfato es un intermediario de la vía de las pentosas fosfato por la que puede continuar su degradación hasta fructosa-6-fosfato y glucosa-6-fosfato **(Figura 15)**.

5. Metabolismo del glucógeno

El glucógeno está presente en todas las células animales, especialmente en el hígado y el músculo, donde se almacena. Las vías de síntesis y degradación se llevan a cabo por enzimas diferentes.

5.1. Biosíntesis del glucógeno

En la síntesis de glucógeno participa la glucógeno sintasa, que cataliza la formación de un enlace glucosídico entre el C_1 de una glucosa activada como UDP-glucosa y el C_4 de una glucosa terminal de una cadena preformada de gucógeno, liberando uridina difosfato libre (UDP). Dado que la sintasa sólo puede alargar cadenas preexistentes, es necesaria la existencia de una molécula cebadora inicial, papel que se ha atribuido a una proteína, la glucogenina, que está glicosilada en un residuo específico de tirosina por UDP-glucosa. Posteriormente, se van adicionando nuevos residuos en posición α-1,4 para comportarse como sustrato de la sintasa **(Figura 16)**.

Los restos de glucosa se van adicionando al extremo no reductor, con lo que se obtiene una cadena lineal. Cuando esta cadena se ha alargado unos 11 residuos, una enzima ramificante, que es una glicosil-4,6-transferasa, transfiere una cadena (de entre cinco y nueve residuos de glucosa) a un punto situado a una distancia de entre cuatro y seis residuos de una ramificación, formando un enlace α-1,6. Esta nueva ramificación se alarga de nuevo por la sintasa, formando enlaces α-1,4 **(Figura 17)**.

5.2. Degradación de glucógeno

La degradación de glucógeno se lleva a cabo retirando unidades de glucosa a partir del extremo C_4 no reductor de la cadena de glucógeno. La enzima implicada en este proceso es la fosforilasa, que promueve la ruptura fosforolítica por P_i de enlaces α-1,4 y, como resultado, se obtiene glucosa-1-fosfato. Esta enzima degrada el glucógeno hasta que se llega a una glucosa situada a cuatro residuos de una ramificación (enlace α-1,6).

Para completar la degradación se necesita una enzima desramificante o amilo-1,6-glucosidasa. Esta enzima tiene dos sitios con actividades catalíticas distintas: actividad glicosil transferasa, que transfiere cadenas de tres restos unidos por enlaces α-1,4, hasta el extremo C4 de otra cadena; y actividad α-1,6-glucosidasa, que retira los restos de glucosa existentes en las ramificaciones **(Figura 18)**. Por tanto, en la degradación del glucógeno todas las moléculas de glucosa se liberan como glucosa-1-fosfato, con la excepción de las que estaban en las ramificaciones, que lo hacen en forma de glucosa libre.

La obtención de glucosa como glucosa-1-fosfato tiene una ventaja y es que en el músculo ya está activada para su degradación. En el hígado, la glucosa-1-fosfato debe convertirse en glucosa-6-fosfato por la fosfoglucomutasa, y ésta, posteriormente, hidrolizarse por la glucosa-6-fosfatasa, para dar glucosa libre que saldrá al torrente sanguíneo.

La existencia de un gran número de ramificaciones hace que el glucógeno sea más soluble y más rápidamente metabolizable, al existir más extremos no reductores sobre los que podrá actuar la fosforilasa.

5.3. Regulación del metabolismo del glucógeno

Las enzimas que controlan el metabolismo del glucógeno, la sintasa y la fosforilasa, están sometidas a regulación alostérica y a modificación covalente, por fosforilación y desfosforilación.

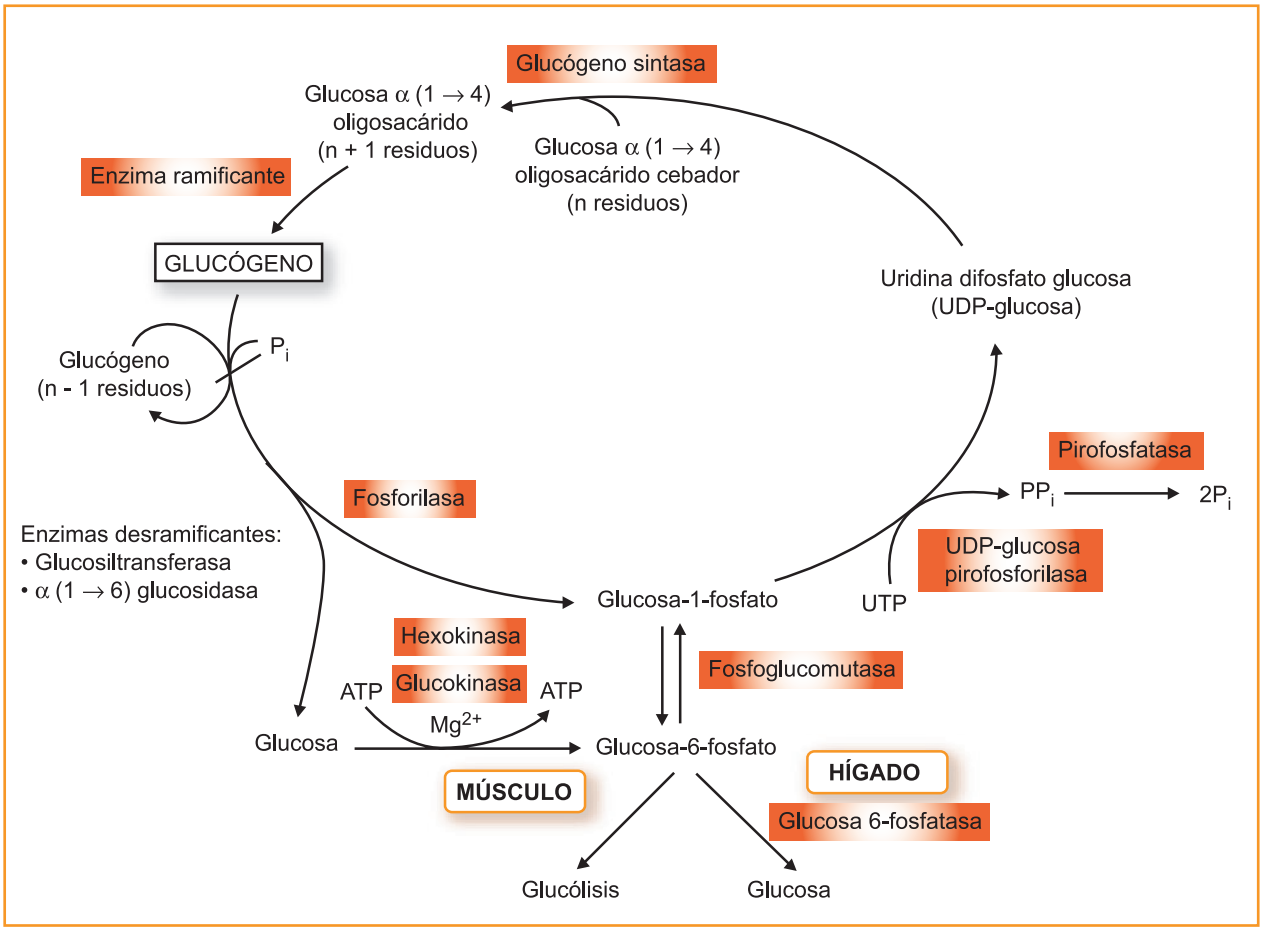


Figura 16. *Esquema del metabolismo del glucógeno.*

5.3.1. Regulación de la degradación

En la regulación de la degradación del glucógeno en el músculo esquelético y en el hígado existen diferencias que se deben a la distinta función que tiene en ambos tejidos.

5.3.1.1. Músculo esquelético

La finalidad de la degradación del glucógeno muscular es la de obtener ATP para llevar a cabo la contracción muscular en el ejercicio. La fosforilasa muscular es distinta de la del hígado, ya que es un dímero, en el cual cada monómero contiene un mol de piridoxal fosfato (PLP). Además, esta enzima se presenta en dos formas: la fosforilasa a y la fosforilasa b. La fosforilasa a es la forma fosforilada y es activa tanto en ausencia como en presencia de AMP, que es su activador alostérico. La fosforilasa b no está fosforilada y sólo es activa en presencia de AMP. Esto es importante en situaciones de ejercicio muscular intenso cuando se elevan los niveles de AMP. La activación de la fosforilasa b producida por el AMP se puede revertir por ATP y por glucosa-6-fosfato. Ambos se comportan como inhibidores alostéricos y son un índice de que hay energía y, por tanto, no es necesario degradar más glucógeno.

La fosforilación de la fosforilasa es llevada a cabo por una enzima denominada fosforilasa kinasa. La fosforilasa kinasa es un tetrámero constituido por las subunidades α, β, γ y δ. Las subunidades α y β contienen residuos de serina que son fosforilados por la proteína kinasa A, mientras que la subunidad δ es una proteína que liga cuatro iones Ca^{++} y es idéntica a la proteína ligadora de Ca^{++}, calmodulina. La unión de Ca^{++} activa el centro catalítico de la subunidad γ, con lo que la molécula se hace parcial-

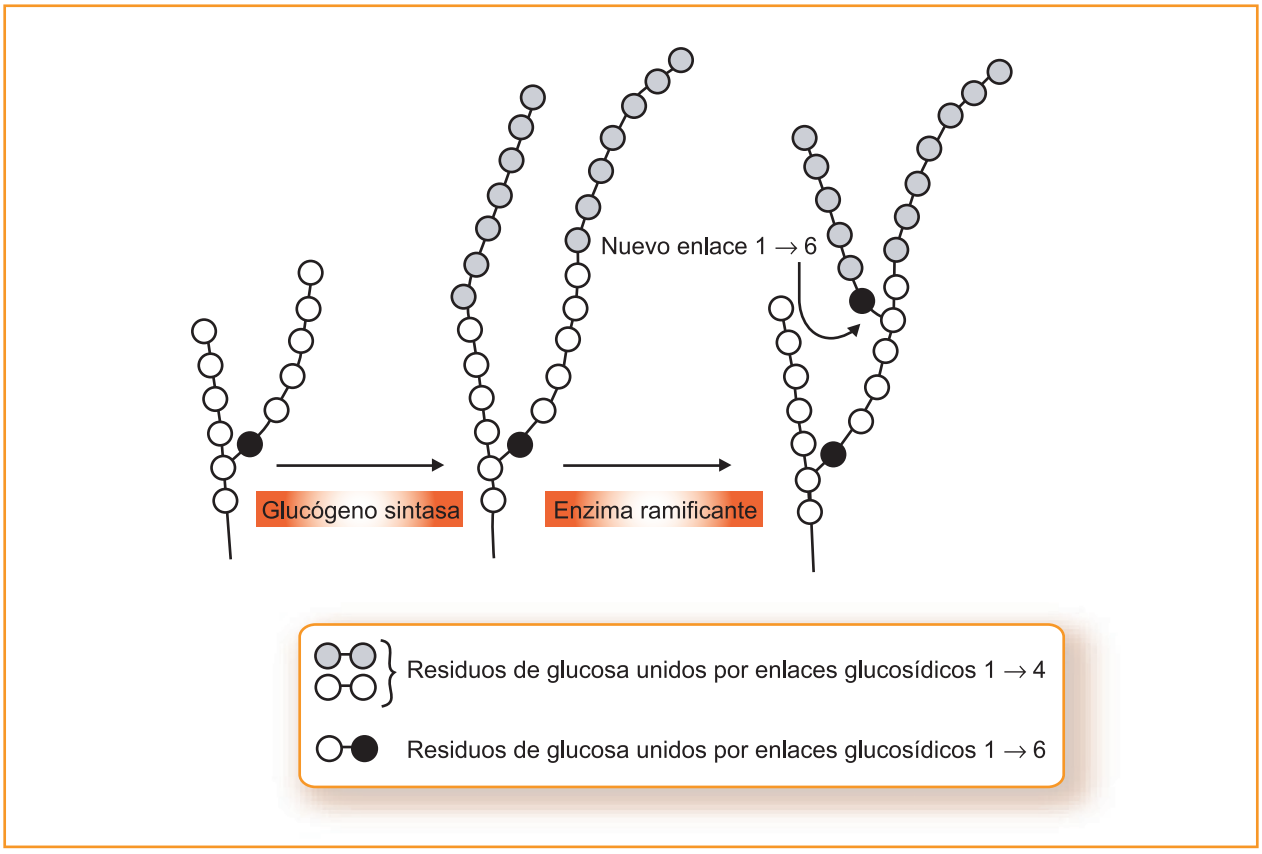


Figura 17. *Esquema de la reacción de la enzima ramificante en la síntesis de glucógeno.*

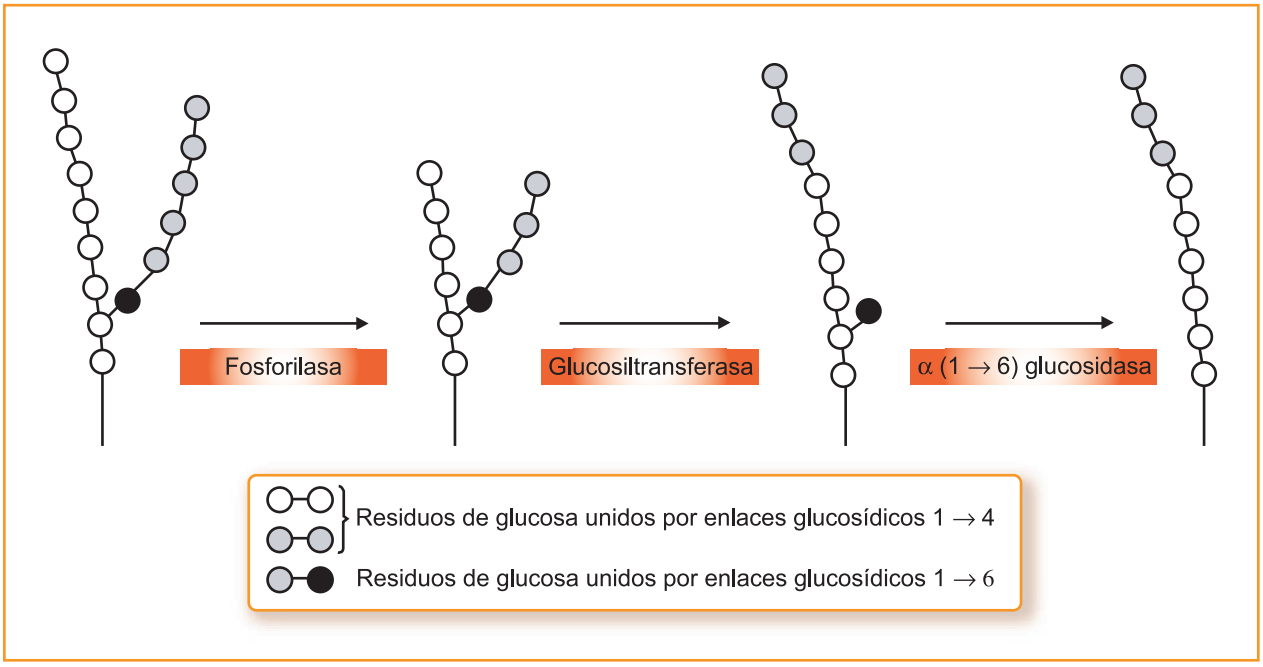


Figura 18. *Esquema de la reacción del sistema desramificante en la degradación de glucógeno.*

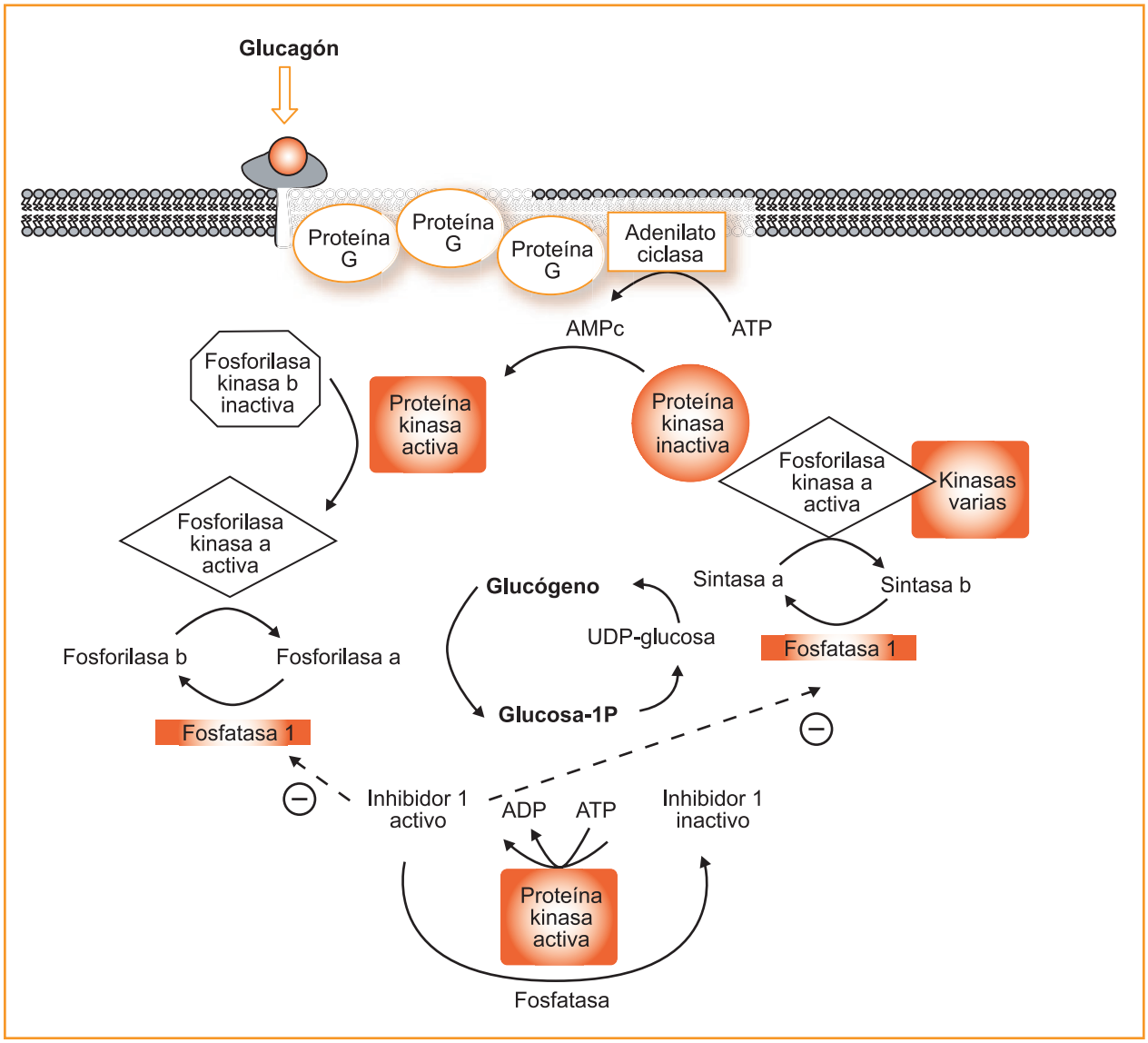


Figura 19. *Regulación del metabolismo del glucógeno en el hígado por el glucagón.*

mente activa, aun permaneciendo en su forma no fosforilada como fosforilasa kinasa b. Para ser totalmente activa la fosforilasa kinasa a no sólo debe estar fosforilada, sino que también debe estar unida a Ca^{++}. Una segunda molécula de calmodulina o troponina C que liga Ca^{++} en el músculo puede también interaccionar con la fosforilasa kinasa, produciendo una activación adicional. De esta forma, la activación de la glucogenólisis y la contracción muscular pueden sincronizarse por una misma proteína.

En el músculo, la glucogenólisis se incrementa considerablemente al comenzar la contracción muscular, lo que implica una rápida activación de la fosforilasa mediante la activación de la fosforilasa kinasa por Ca^{++}, la misma señal que inicia la contracción muscular en respuesta a la estimulación nerviosa.

La fosforilasa en el músculo se activa en respuesta a adrenalina (*ver Capítulo 1.5*) que, al unirse a sus receptores β-adrenérgicos, eleva los niveles de AMPc y con ello activa la proteína kinasa A. A continuación, la proteína kinasa A cataliza la fosforilación de la fosforilasa kinasa b, que se convierte en fosforilasa kinasa a activa. Por último, esta enzima activa fosforila la fosforilasa b y la convierte en fosforilasa a activa.

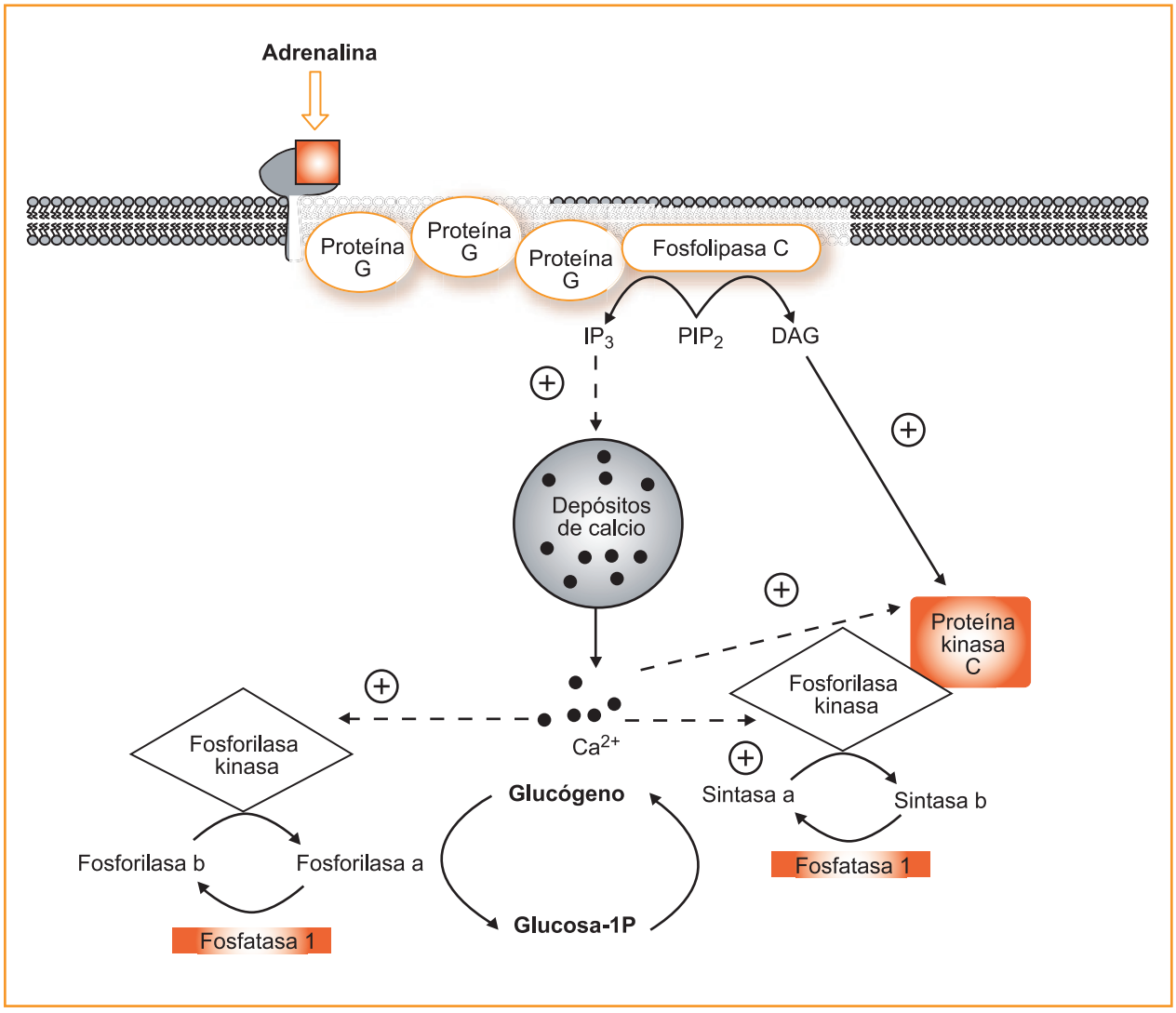


Figura 20. *Regulación del metabolismo del glucógeno en el hígado por la adrenalina a través de sus receptores α_1-adrenérgicos.*

5.3.1.2. Hígado

La glucogenólisis en el hígado está regulada por glucagón **(Figura 19)**, que, al unirse a su receptor, estimula la producción de AMPc y con ello la activación de la fosforilasa por un mecanismo semejante al descrito para la fosforilasa muscular.

La adrenalina y la noradrenalina estimulan también la glucogenólisis en el hígado a través de su unión a receptores α_1-adrenérgicos (*ver Capítulo 1.5*). La interacción del complejo hormona-receptor con las proteínas G estimula la actividad fosfolipasa C de la cara interna de la membrana plasmática. Esta fosfolipasa C hidroliza el fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP_2) de la membrana, liberando inositol-1,4,5-trifosfato (IP_3) y diacilglicerol (DAG), que se comportan como segundos mensajeros hormonales **(Figura 20)**.

El IP_3 se une a receptores específicos del retículo endoplásmico, con lo que se produce la salida de Ca^{++}. El calcio liberado se une a la subunidad δ de la fosforilasa kinasa y la activa parcialmente. Por lo tanto, la fosforilasa kinasa hepática se activa hormonalmente por dos mecanismos: fosforilación y unión a Ca^{++}. La fosforilasa kinasa a activa fosforila la fosforilasa b, pasándola a su forma activa fosforilasa. Con ello, se desencadena la degradación del glucógeno y la liberación de glucosa al plasma.

La fosforilasa a y la fosforilasa kinasa a son desfosforiladas e inactivadas por la fosfoproteína fosfatasa-1. La fosfoproteína fosfatasa-1 es inhibida por el inhibidor-1, que es activo cuando se ha fosforilado por la proteína kinasa A. De esta forma, el AMPc controla la activación y la inactivación de la fosforilasa. La insulina refuerza este efecto, inhibiendo indirectamente la activación de la fosforilasa b, ya que, al aumentar la captación de glucosa, conduce a un incremento de glucosa-6-fosfato, que es un inhibidor de la fosforilasa kinasa.

La finalidad de la degradación del glucógeno hepático es la de liberar glucosa a la sangre cuando existe hipoglucemia. La glucosa libre es capaz de regular directamente la degradación de glucógeno. Así, cuando los niveles de glucosa libre estan incrementados, ésta se une a la fosforilasa a y le produce un cambio conformacional que la hace mejor sustrato para la fosfoproteína fosfatasa-1.

5.3.2. Regulación de la biosíntesis

La regulación de la síntesis recae en la sintasa, que, a diferencia de la fosforilasa, tiene múltiples sitios de fosforilación. Su forma activa, sintasa a, es la no fosforilada y puede ser inactivada por fosforilación en restos de serina por al menos seis proteína kinasas diferentes que la transforman en sintasa b. La sintasa b es dependiente de glucosa-6-fosfato, su activador alostérico, mientras que la sintasa a es independiente de glucosa-6-fosfato y siempre es activa. En el músculo en reposo, predomina la sintasa a, y en el músculo en ejercicio, la sintasa b. Esto tiene sentido desde el punto de vista fisiológico, ya que una alta concentración de glucosa-6-fosfato indica que es necesario que se almacene como glucógeno.

Entre las proteína kinasas que fosforilan la sintasa se encuentran la proteína kinasa A activada por AMPc y la fosforilasa kinasa a, que se activa por AMPc y por Ca^{++}. Existen, además, la proteína kinasa C dependiente de Ca^{++} y de diacilglicerol (DAG), y la sintasa kinasa 3, que está controlada por insulina. Los múltiples sitios susceptibles de fosforilación de la sintasa según van siendo fosforilados por las diferentes kinasas se ven en las **Figuras 19 y 20**.

La isulina activa la síntesis de glucógeno tanto en el músculo como en el hígado, incrementando la actividad sintasa, mientras que tanto el glucagón (en hígado) como la adrenalina inhiben esta síntesis.

La insulina actúa mediante varios mecanismos. Por una parte, inhibe la fosforilación de la glucógeno sintasa, concretamente de tres serinas que se encuentran en el extremo carboxilo terminal de la glucógeno sintasa y que no son fosforiladas por la PKA, sino por la glucógeno sintasa kinasa 3. En presencia de insulina, la glucógeno sintasa kinasa 3 es inhibida. La insulina (*ver Capítulo 1.5*), al unirse a sus receptores en la membrana plasmática, desencadena una serie de señales que conducen a la activación de la fosfatidilinositol-3-kinasa, que activa la proteína kinasa B y ésta, a su vez, fosforila la glucógeno sintasa kinasa 3 y la inactiva.

Otro mecanismo por el que la insulina puede activar la sintasa es promoviendo la fosforilación de la fosfoproteína fosfatasa-1, lo que produce su activación y con ello la desfosforilación de la sintasa.

Además, la insulina activa la síntesis de glucógeno en el músculo al mismo tiempo que inhibe la glucogenólisis, al incrementar los niveles de glucosa-6-fosfato. Por último, la desfosforilación de la sintasa también se lleva a cabo por la fosfoproteína fosfatasa-1 controlada, como se indicó anteriormente, por el AMPc.

6. Metabolismo de oligosacáridos. Biosíntesis de lactosa

La lactosa se sintetiza en los animales en la glándula mamaria por la lactosa sintetasa. Esta enzima está formada por una subunidad que tiene actividad transferasa, la galactosil transferasa, y una subunidad reguladora, la α-lactoalbúmina, cuya síntesis se activa hormonalmente en la glándula mamaria después del parto. La reacción consiste en la transferencia de una molécula de glucosa a la UDP-galactosa.

UDP-galactosa + glucosa → UDP + lactosa

Normalmente, la galactosil transferasa, formada sólo por la subunidad catalítica, cataliza la reacción

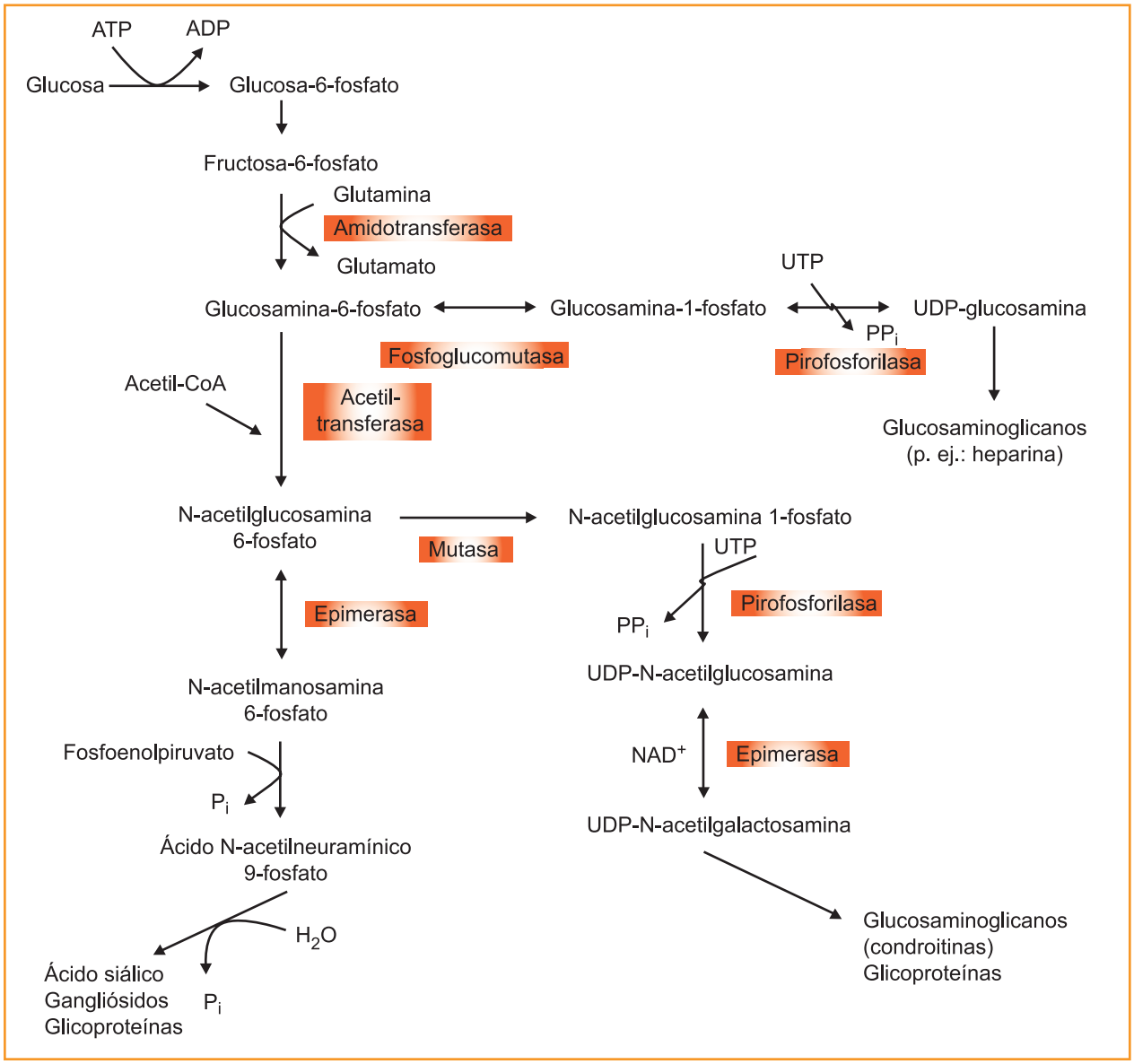


Figura 21. *Esquema de la ruta de biosíntesis de los aminoazúcares y sus derivados.*

entre la UDP-galactosa y la N-acetil-glucosamina, con lo que se sintetiza N-acetil-β-lactosamina, que es un componente de las glicoproteínas.

7. Biosíntesis de aminoazúcares

Los aminoazúcares son componentes de los glucosaminoglicanos, anteriormente denominados mucopolisacáridos. Entre ellos, se encuentran componentes del tejido conjuntivo, como el condroitín sulfato y el queratán sulfato, y de la piel, como el dermatán sulfato y el ácido hialurónico. Otro glucosaminoglicano que no tiene función estructural es la heparina. Generalmente, los glucosaminoglicanos están unidos a proteínas, constituyendo los proteoglicanos, que tienen un porcentaje muy elevado de azúcares (> 95%). Los aminoazúcares son también componentes de las glicoproteínas y de los glucolípidos.

Todos los glucosaminoglicanos son polímeros de unidades repetidas de disacáridos. Uno de los componentes del disacárido es un derivado del aminoazúcar, N-acetil-glucosamina o N-acetil-galactosamina; y el otro, un azúcar con un grupo de naturaleza ácida, carboxílico o sulfúrico **(Figura 21)**.

El aminoazúcar que se sintetiza en primer lugar es la glucosamina-6-fosfato. Éste se sintetiza en una reacción catalizada por la glutamina:fructosa-6-fosfato amidotransferasa, en la que la glutamina transfiere su grupo amida.

Posteriormente, la glucosamina-6-fosfato se acetila por una acetil transferasa que utiliza acetil-CoA como coenzima y origina N-acetil-glucosamina-6-fosfato. Para que ésta pueda participar en reacciones de biosíntesis se debe activar, convirtiéndose en UDP-N-acetil-glucosamina. Con este fin, primero se isomeriza por una mutasa para dar lugar a N-acetil-glucosamina-1-fosfato y posteriormente se activa con UTP, en una reacción catalizada por una pirofosforilasa, obteniéndose, así, UDP-N-acetil-glucosamina.

La N-acetil-glucosamina se epimeriza a N-acetil-galactosamina en una reacción semejante a la descrita previamente para la interconversión de UDP-glucosa y UDP-galactosa. Además, la N-acetil-glucosamina-6-fosfato se epimeriza a N-acetil-manosamina-6-fosfato que, al reaccionar con fosfoenolpiruvato, da lugar a la síntesis de N-acetil-neuramínico-9-fosfato y, a partir de éste, el ácido neuramínico o ácido siálico.

La activación del ácido siálico para la biosíntesis de oligosacáridos no comporta su conversión en nucleósido-difosfato azúcar, sino de un nucleósido monofosfato-azúcar, citidina-monofosfato-ácido siálico, o CMP-siálico, a partir de CTP:

CTP + ácido siálico → CMP-siálico + PP_i

En la formación de los disacáridos participan glicosiltransferasas que utilizan como dador del azúcar su UDP-derivado.

El CMP-siálico se sintetiza en el núcleo de las células animales, mientras que todos los demás derivados de azúcares unidos a nucleótidos lo hacen en el citosol.

8. Resumen

- Entre los hidratos de carbono, la glucosa es el más importante, ya que es el combustible por excelencia de todas las células. Su degradación puede realizarse por vía aerobia, oxidándose completamente hasta CO_2, dando lugar a gran cantidad de energía, o por vía anaerobia, hasta lactato, en la que la cantidad de energía que se obtiene es baja. La degradación anaerobia, aunque no es rentable desde el punto de vista energético, tiene la ventaja de que se puede realizar en aquellos tejidos que carecen de mitocondrias o en situaciones en las que el aporte de oxígeno está comprometido.

- La glucosa debe mantenerse constante en sangre para poder ser suministrada a las células que la requieren como combustible exclusivo. El glucógeno constituye la reserva de glucosa en el organismo y se almacena de forma importante en el hígado y el músculo. Cuando los niveles sanguíneos de glucosa caen por debajo de unos determinados niveles normales, el glucógeno hepático se degrada para liberar glucosa. Por el contrario, cuando los niveles de glucosa se elevan, se retira de la sangre y se almacena en forma de glucógeno. La regulación del metabolismo del glucógeno en el hígado se lleva a cabo principalmente por las hormonas adrenalina y glucagón, que son hiperglucemiantes, y por la insulina, que es hipoglucemiante. El glucógeno muscular se sintetiza en las mismas situaciones que el hepático. Sin embargo, su degradación se realiza para suministrar combustible al propio músculo, con el fin de llevar a cabo la contracción muscular. La regulación de su degradación, en líneas generales, es semejante a la del hígado, pero sobre éste no influye el glucagón, que no tiene receptores en la célula muscular.

- Una vía que sirve para la obtención de glucosa en el hígado y la corteza renal es la gluconeogénesis. En ella se sintetiza glucosa a partir de precursores no glucídicos proporcionados por otros tejidos. Esta ruta, junto con la glucólisis, que sería el proceso opuesto, está muy bien regulada tanto a nivel de actividad de las enzimas implicadas como a nivel de expresión génica, participando en su regulación entre otras varias hormonas y la propia glucosa.

- Aunque las vías anteriores podrían considerarse las más importantes desde el punto de vista metabólico, también la glucosa puede seguir otras rutas que tienen finalidades diferentes. Una de ellas es la vía de las pentosas fosfato, por la que se obtienen pentosas, para la síntesis de nucleótidos, y poder reductor para la síntesis de ácidos grasos o para eliminar especies de oxígeno reactivas. Otra es la ruta es la conversión de glucosa en ácido glucurónico. Este ácido participa en reacciones de destoxificación y en la biosíntesis de mucopolisacáridos.

- También otros azúcares y polialcoholes son metabolizados en el organismo humano y convertidos en otros derivados glucídicos de interés biológico o degradados para la obtención de energía.

9. Bibliografía

Elliot WE, Elliot DC. Bioquímica y Biología molecular, 1ª ed. Ariel. Barcelona, 2002.
En este libro se insiste en la lógica de cada reacción, y abarca coordinación y regulación metabólica con implicaciones de situaciones patológicas.

Mathews CK, Van Holde, Ahern KE. Bioquímica, 3ª ed. Addison Wesley. Madrid, 2002.
Manual de Bioquímica muy completo y actualizado, con un enfoque muy adecuado para hacer fácil su utilización.

Medina JM, Sánchez de Medina F, Vargas AM. Bioquímica, 2ª ed. Síntesis. Madrid, 2003.
Manual básico de Bioquímica que analiza el metabolismo de los hidratos de carbono de forma precisa y clara.

Murria RK, Granner Dk, Mayes PA, Rodwell VW Harper's Illustrated Biochemistry, 26th ed. Lang Medical Books/McGraw-Hill. New York, 2003.
Libro muy completo y muy actualizado, que relaciona la Bioquímica humana con las alteraciones patológicas y la Medicina molecular.

Nelson DL, Cox MM, Lehninger. Principios de Bioquímica, 3ª ed. Omega. Barcelona, 2001.
Manual clásico de Bioquímica que proporciona unos conceptos muy claros en las rutas metabólicas y su regulación.

Salway JG. Una ojeada al metabolismo, 2ª ed. Omega. Barcelona, 2002.
Proporciona una visión del metabolismo muy amplia, así como aspectos de algunas patologías.

Stryer L, Berg JM, Tymoczko JL. Bioquímica, 5ª ed. Reverté. Barcelona, 2003.
Manual clásico de Bioquímica que proporciona unos conceptos muy claros en las rutas metabólicas y su regulación, incluyendo en esta nueva edición aspectos clínicos.

10. Enlaces web

- www.biology.arizona.edu/biochemistry
- www.bmb.leeds.ac.uk/illingworth/metabol/sugars.htm
- elmhurst.edu/~chm/vchembook/601glycolysissum.html
- www.fhsu.edu/chemistry/twiese/360/glycolysis
- www.indstate.edu/thcme/mwking/glycolysis.html

1.10. Fibra dietética

Antonio Zarzuelo Zurita ■ Julio Gálvez Peralta

Capítulo 1.10.

Fibra dietética

1. Introducción

2. Definición de la fibra dietética

3. Componentes de la fibra dietética

3.1. Polisacáridos

3.1.1. Celulosa

3.1.2. Hemicelulosas

3.1.3. Pectinas

3.1.4. Gomas

3.1.5. Mucílagos

3.1.6. Almidón resistente

3.2. Oligosacáridos

3.3. Lignina

4. Tipos de fibra dietética

4.1. Fibras solubles e insolubles

4.2. Fibras fermentables y no fermentables

5. Propiedades fisiológicas de la fibra dietética

5.1. Derivadas de su solubilidad

5.2. Derivadas de la fermentación por bacterias intestinales

6. Efectos potencialmente negativos de la fibra dietética

7. Recomendaciones de consumo de fibra dietética

8. Aplicaciones terapéuticas de la fibra dietética

8.1. Fibra dietética y alteraciones gastrointestinales

8.1.1. Estreñimiento

8.1.2. Diverticulosis

8.1.3. Enfermedad inflamatoria intestinal

8.2. Fibra dietética y obesidad

8.3. Fibra dietética y diabetes mellitus

8.3.1. Diabetes mellitus tipo 1

8.3.2. Diabetes mellitus tipo 2

8.3.3. Mecanismos de acción

8.4. Fibra dietética y enfermedad cardiovascular

8.4.1. Enfermedad coronaria

8.4.2. Ictus cerebral
8.4.3. Mecanismos de acción
8.4.3.1. Disminución del colesterol en sangre
8.4.3.2. Mejora en el control de la presión arterial
8.4.3.3. Disminución en la resistencia a la insulina
8.5. Fibra dietética y cáncer
8.5.1. Cáncer colorrectal
8.5.2. Cáncer de mama
8.5.3. Mecanismos de acción

9. Resumen

10. Bibliografía

11. Enlaces web

Objetivos

- Conocer el concepto de fibra dietética.
- Establecer los diferentes grupos de compuestos que pueden formar parte de la fibra dietética, situándolos en sus principales fuentes de obtención.
- Diferenciar los distintos tipos de fibra dietética en función de sus principales características (solubilidad y fermentabilidad bacteriana), estableciendo su relación con las propiedades fisiológicas derivadas de su ingesta.
- Conocer las recomendaciones en cuanto al consumo de fibra dietética para una dieta "saludable".
- Razonar el papel que el consumo de fibra tiene en la prevención de patologías digestivas como el estreñimiento o la diverticulosis.
- Establecer el papel beneficioso que la fibra dietética tiene en el tratamiento de enfermedades metabólicas, incluidas la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2 o la hipercolesterolemia, razonando los mecanismos involucrados en función de sus distintos componentes.
- Conocer el papel que la ingesta de fibra puede tener en la prevención de tumores, como en el caso de cáncer de colon o de mama, así como los mecanismos que justificarían dicho efecto preventivo.

1. Introducción

En el año 1997 la revista *Nutrition Science News* publicó un interesante artículo con el siguiente encabezado: "Nutrición en el paleolítico: tu futuro depende de tu pasado. Los genes humanos, formados durante millones de años de evolución, hacen mala pareja con las dietas modernas altamente elaboradas". Esta publicación concluye que el hombre actual presenta características genéticas similares a las de sus antepasados; sin embargo, ha cambiado radicalmente sus hábitos dietéticos. Mientras nuestra dieta era entonces muy rica en legumbres, frutas y verduras, actualmente predominan las proteínas y grasas de origen animal. Estos cambios han constituido la base epidemiológica para relacionar numerosas enfermedades metabólicas y del aparato digestivo con la falta de fibra en nuestra dieta.

La dieta actual de los países desarrollados contiene poco o ningún residuo, por falta de la necesaria fibra contenida especialmente en los cereales, verduras y frutas. En las personas adultas esta carencia es un factor de riesgo que contribuye al desarrollo de numerosas enfermedades. Pero esta carencia de fibra es mucho más peligrosa en la niñez y adolescencia, ya que va a influir decisivamente en la aparición precoz de enfermedades graves como la obesidad, la diabetes, la hipercolesterolemia y otras del aparato digestivo, como el estreñimiento crónico o la diverticulosis. De hecho, muchas de estas enfermedades se inician en la edad pediátrica, aunque normalmente se expresan clínicamente a partir de la cuarta década de vida.

El menor consumo de alimentos ricos en fibra puede tener diversas explicaciones. Así, los alimentos poco elaborados son más bastos, obligan a una masticación más trabajosa y suelen tener un menor prestigio social. Además, en el análisis del aumento del consumo de alimentos de origen animal y el descenso de los de origen vegetal, hay que añadir, especialmente en los niños y adolescentes, la aparición de la televisión con sus mensajes sobre determinados alimentos de gran atracción psicológica y social para ellos. Éstos son alimentos muy elaborados, con un alto contenido en grasas saturadas e hidratos de carbono, pero prácticamente carentes de fibra dietética.

El objeto de este Capítulo es presentar el concepto actual de fibra dietética, sus fuentes y las propiedades fisiológicas que manifiestan los diferentes tipos de fibra. También se presenta una visión general de los efectos beneficiosos para la salud del consumo de fibra, profundizando en los mecanismos que pueden desarrollar dichos efectos.

2. Definición de la fibra dietética

Hispley en 1953 fue el primer científico que reflejó por escrito el término de fibra dietética, definiéndolo como "los constituyentes no digeribles que se encuentran en la pared de la célula vegetal", haciendo sinónimo el término de fibra vegetal con el de fibra dietética.

Entre 1972 y 1976 Burkitt, Trowell y Painter adoptan un término más amplio de fibra dietética debido a que diversos estudios epidemiológicos encuentran una correlación entre el consumo de determinados alimentos no digeribles y la disminución de ciertas patologías, como el estreñimiento, la obesidad, la diabetes, la enfermedad coronaria e incluso determinados tipos de cáncer, proponiendo la conocida "hipótesis de la fibra dietética". Esto lleva a Trowell a proponer en 1976 como definición de fibra dietética el "remanente de los componentes de la planta que son resistentes a la hidrólisis por las enzimas intestinales humanas". Este concepto engloba los componentes de la pared celular, como celulosas, hemicelulosas y lignina, y otros polisacáridos presentes en las plantas, como las gomas, mucílagos, celulosas modificadas, oligosacáridos y pectinas, que son comestibles y resistentes a la digestión. El motivo para incluir estos nuevos componentes de las plantas se basaba en las propiedades fisiológicas atribuidas a la fibra dietética, pero no necesariamente a su similitud química o a su situación en la pared celular.

En el año 2001, la *American Association of Cereal Chemist* amplió aún más el concepto de fibra dietética: "La fibra dietética es la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina, y sustancias asociadas de la planta. Las fibras dietéticas promueven efectos beneficiosos fisiológicos como el laxante, y/o atenúa los niveles del colesterol en sangre y/o atenúa la glucosa en sangre".

Los aspectos más importantes de este concepto que se deben resaltar son:

1. "... es la parte comestible...". Obviamente, para que un componente de los alimentos pueda ser parte de la dieta debe ser comestible. Se indica "la parte", ya que puede ser una porción de un alimento completo o un producto de un alimento.

2. "... de las plantas...". La fibra dietética ha sido considerada tradicionalmente de origen vegetal.

3. "... o hidratos de carbono análogos...". Los análogos estructurales de los hidratos de carbono que constituyen parte de la fibra dietética han demostrado presentar propiedades fisiológicas similares a los naturales. Éstos se producen durante el procesado de los alimentos por métodos químicos o físicos; o por síntesis dirigida.

4. "... que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado...". La resistencia a la digestión es la clave que tienen en común los diferentes tipos de fibra dietética.

5. "... con fermentación completa o parcial en el intestino grueso...". Algunos de los efectos beneficiosos de la fibra están relacionados con su capacidad de fermentación. Ésta tiene un papel básico en el control del tránsito intestinal, en la regulación del pH del colon y finalmente, como consecuencia de la fermentación, se producen subproductos con importantes efectos fisiológicos.

6. "... incluye polisacáridos...". Los polisacáridos como la celulosa y hemicelulosa son la parte fundamental de la fibra dietética. Para muchas fibras el gran tamaño molecular de la celulosa le da su apariencia fibrosa que justifica su nombre. Para otras fibras dietéticas los polisacáridos como los β-glucanos les confieren las características gelatinosas de las fibras solubles. Todos los polisacáridos no digeribles son poliglucosas como la celulosa o β-glucanos, polifructosas como la inulina, heteropolímeros como arabinoxilanos y arabinogalactanas, o análogos de los hidratos de carbono.

7. "... oligosacáridos...". Son polisacáridos de cadena corta con una extensión de polimerización entre 3 y 10 unidades. Presentan algunas de las propiedades fisiológicas de los polisacáridos más grandes, motivo por el que se le incluyen en esta definición.

8. "... lignina...". Aunque no es un polisacárido *per se*, está unida de forma intrincada a los polisacáridos de la fibra en los alimentos e incrementa la resistencia a la digestión.

9. " ... y sustancias asociadas de la planta...". Ceras, cutina y suberina son derivados de ácidos grasos no digeribles, que, como la lignina, están íntimamente unidos a los polisacáridos de la fibra

Tabla 1. PRINCIPALES CONSTITUYENTES DE LA FIBRA DIETÉTICA

Polisac□ridos	Oligosac□ridos	An□logos de hidratos de carbono	Derivados no hidratos de carbono
• Celulosa	• Inulina	• Dextrinas no digeribles	• Lignina
• Hemicelulosa	• Fructooligosac□ridos	• Maltodextrinas resistentes	• Ceras
• Pectinas	• Galactooligosac□ridos	• Polidextrosa	• Fitatos
• Gomas		• Metilcelulosa	• Cutinas y suberinas
• Muc□lagos		• Hidroxipropilmetilcelulosa	• Compuestos polifen□licos (taninos)
• Polifructosas		• Hidratos de carbono sint□ticos	

dietética, a menudo sirviendo de puente de unión entre otros componentes e incrementando la resistencia a la digestión.

10. "... Las fibras dietéticas promueven efectos beneficiosos fisiológicos...". Una de las características de la fibra es que presenta efectos positivos para la salud.

11. "... como laxante...". La laxación es un efecto fisiológico muy importante que resulta de un incremento de la fibra en la dieta en sustitución de otros componentes. Constituye un efecto fisiológico casi garantizado y proporciona una sensación positiva a los individuos que consumen fibra dietética.

12. "... y/o...". El uso de y/o incluido en la definición hace referencia a que no todas las fibras presentan todos los efectos beneficiosos, pero se puede esperar que presenten al menos uno de ellos.

13. "... atenúa los niveles del colesterol en sangre y/o atenúa la glucosa en sangre". El término atenuar, en un contexto científico, significa que ajusta una variable a niveles convenientes o los reduce a niveles deseados.

3. Componentes de la fibra dietética

Los principales componentes que se pueden incluir en el concepto de fibra dietética, en el sentido más amplio, se recogen en la **Tabla 1**.

3.1. Polisacáridos

3.1.1. Celulosa

La celulosa es un polisacárido lineal formado por unidades de D-glucosa (hasta 10.000) unidos por un enlace β-1,4. Existen abundantes puentes de hidrógeno que se establecen intra e intercatenariamente, lo que conduce a una organización de las cadenas en miofibrillas y fibras, formando estructuras cristalinas muy estables. Esta disposición estructural, junto a su composición química, explica las propiedades de la celulosa, destacando su carácter de insolubilidad en agua.

Es el compuesto más abundante de las paredes celulares de las plantas, de ahí su importancia cuantitativa en el conjunto de la fibra. En general, aportan cantidades muy importantes de celulosa las verduras, frutas, frutos secos y cereales. Una proporción mayoritaria del salvado de los cereales es celulosa.

Al ser la celulosa un polímero polihidroxilado se puede esterificar y eterificar fácilmente obteniéndose derivados semisintéticos, que modifican algunas de las propiedades de la celulosa, ampliando de esta forma sus aplicaciones. Así, la eterificación conduce a polímeros hidrosolubles con numerosas aplicaciones tecnológicas: metil, etil, propil y carboximetilcelulosa. En estos componentes la hidrosolubilidad depende del grado de sustitución de los hidroxilos del polímero original, formando la mayoría de ellos soluciones muy viscosas al ponerse en contacto con el agua. Algunos de estos análogos

como la metilcelulosa o la hidroxipropilmetilcelulosa se incluyen dentro del concepto de fibra como análogos estructurales de los hidratos de carbono.

3.1.2. Hemicelulosas

Las hemicelulosas son polímeros más pequeños que la celulosa (50-2.000 residuos), formados por diversos tipos de azúcares y con estructura ramificada. Por tanto, se diferencian de la celulosa en el tamaño de la molécula, en el tipo de sus monómeros, que en la celulosa es sólo glucosa, mientras la hemicelulosa además de glucosa tiene otros tipos de azúcares, y finalmente en su estructura espacial, siendo en la celulosa lineal y en las hemicelulosas ramificada. Aunque las hemicelulosas son muy heterogéneas, se pueden establecer dos grandes grupos:

a) Hemicelulosas neutras, formadas por pentosanos de arabinosa y xilosa y hexosanos de galactosa, manosa y glucosa.

b) Hemicelulosas ácidas, en donde aparecen ácidos galacturónico y glucurónico.

Las diferencias químicas entre ellas, especialmente la presencia de grupos ácido, y la estructura molecular en conjunto, hacen que los dos tipos de hemicelulosas tengan diferentes propiedades físicas y químicas, y por tanto distintos efectos fisiológicos.

Se encuentran asociados a la celulosa como constituyentes de las paredes celulares. Este hecho es muy interesante, ya que ambas sustancias forman parte de la cubierta externa (lo que constituye fundamentalmente el salvado), y por tanto el aporte en fibra va a ser muy diferente en función del grado de extracción de la harina, cuando se trata de pan u otros derivados de cereales. De ahí, la importancia de los alimentos integrales en cuanto al aporte diario de fibra.

Independientemente de estas hemicelulosas que se ingieren con la alimentación habitual, se pueden incluir otras que se obtienen de fuentes vegetales y que se utilizan con fines terapéuticos o incorporados en productos alimenticios industriales dada su capacidad gelificante. Entre ellos, destacan:

• Glucomananos. Son polímeros en los que del 20 al 50% de las unidades de D-manosa de la cadena se encuentran reemplazadas por D-glucosa. Las uniones interosídicas son β-1,4; pueden tener varias D-manosas contiguas, pero las glucosas permanecen aisladas. Se disuelven en agua formando soluciones muy viscosas. Son constituyentes de las hemicelulosas parietales, y son frecuentes en los órganos subterráneos de diversas monocotiledóneas, obteniéndose fundamentalmente de los tubérculos de *Amorphophalus rivieri*, variedad konjac.

• Goma de algarrobo o goma de carauba. Está constituido por el albumen de las semillas del árbol algarrobo (*Ceratonia siliqua*). No es conceptualmente una goma, ya que no se obtiene de una exudación debida a un traumatismo. Este polímero está formado por el encadenamiento de β-D-manosas unidas en 1-4, con ramificaciones laterales de una sola unidad de α-D-galactosa en uniones α-1,6. Se calcula una media de una unidad de D-galactosa por cuatro de D-manosa. La goma de algarrobo se solubiliza parcialmente en agua fría y casi totalmente en caliente (80 °C) dando, al enfriarse, disoluciones pseudoplásticas de gran viscosidad que soportan variaciones importantes de pH (3-11). En terapéutica, la harina de algarrobo se asocia a la aleurona de girasol y del arroz constituyendo una preparación absorbente propuesta en el tratamiento sintomático de las diarreas de los lactantes y de los niños pequeños. También se ha utilizado como coadyuvante en regímenes de adelgazamiento.

• Goma guar. Se obtiene por trituración del albumen de las semillas de *Cyamopsis tetragonolobus*. Como en el caso anterior tampoco es una goma auténtica. También es una D-galacto-D-manana, formada por el encadenamiento de β-D-manosas unidas en 1-4 con ramificaciones laterales con una sola unidad de α-D-galactosa, en unión 1-6. La diferencia con la goma de algarrobo es que la relación D-galactosa/D-manosa es de aproximadamente un medio. La goma guar es un polvo de blanco a amarillento, prácticamente insoluble en disolventes orgánicos, pero que da con el agua soluciones de viscosidad variable. Esta galactomanana, como otras fibras solubles, es muy utilizada por los especialistas en nutrición en la composición de regímenes destinados a diabéticos y en pacientes con niveles elevados de colesterol, para protección de enfermedad cardiovascular.

3.1.3. Pectinas

Las sustancias pécticas se pueden definir como un grupo de polímeros construidos sobre restos

de ácido α-galacturónicos unidos en 1-4 con arabinanas y galactanas. La estructura del polímero varía según el origen botánico, pero también cambia para una misma fuente, según el estadio de desarrollo. Estos polisacáridos se localizan principalmente en la laminilla media de la pared de las células vegetales donde se asocian a la celulosa y a las hemicelulosas, por enlaces de naturaleza no precisada.

Las pectinas incorporadas en los alimentos naturales son, junto a la celulosa y hemicelulosas, los tres componentes mayoritarios de la fibra alimentaria.

Las pectinas son abundantes, sobre todo, en frutos inmaduros. En principio, son insolubles, lo que asegura una cierta rigidez de los tejidos, pero durante la maduración se degradan a azúcares y ácidos, siendo esta degradación uno de los mecanismos por los que se produce el ablandamiento de los tejidos.

Las pectinas se extraen a partir de los desechos de limones y manzanas obtenidos en la fabricación de zumos de frutas. Las disoluciones de pectinas son muy viscosas y su comportamiento es pseudoplástico, debido a que los grupos carboxílicos libres se ionizan, por lo que las moléculas se repelen, adquiriendo una conformación extendida, que permiten que sean fuertemente hidratadas.

El interés fundamental de las pectinas en nutrición se debe a sus características de "fibra soluble": al absorber agua constituyen una preparación espesante del contenido gástrico y regulador del tránsito intestinal. Por otra parte, al fermentar con bastante rapidez, favorecen el crecimiento de una microbiota saprofítica más apropiada, aumentando así el volumen fecal. Por ello, se utilizan en el tratamiento sintomático de las regurgitaciones del lactante y en las diarreas.

En dietética, la utilización regular de pectinas ha demostrado su eficacia en el control de la colesterolemia y prevención de enfermedades cardiovasculares, como ocurría con la goma guar.

3.1.4. Gomas

Las gomas son polisacáridos complejos, siempre heterogéneos y ramificados, que contienen diversos azúcares neutros y ácidos urónicos, que pueden estar metilados o acetilados. Fluyen al exterior del vegetal y en general se considera que resultan de un traumatismo (aunque la goma de tragacanto se almacena antes de cualquier agresión). Provienen de la trasformación de polisacáridos de la pared celular, pudiendo incluso proceder del almidón. Aunque se haya postulado que son la manifestación de una adaptación a la sequedad, su presencia en especies de localización septentrional tiende a invalidar esta hipótesis.

La mayoría de las gomas se disuelven en agua formando disoluciones viscosas. Son insolubles en disolventes orgánicos y se solidifican por desecación.

Se incluyen en este grupo componentes que no se suelen ingerir con los alimentos naturales, sino que son el exudado que fluye naturalmente o por incisiones del tronco y de las ramas de diversas plantas. Entre ellas, se pueden citar:

- Goma arábiga, que se obtiene de las acacias (*Acacia senegal*).
- Goma de tragacanto de *Astragalus gummifer*.
- Goma esterculia de *Sterculia tomentosa*.

La goma arábiga y la de tragacanto, debido a su relativa dificultad de obtención, son relativamente poco utilizadas por la industria agroalimentaria, aunque su uso está autorizado como agentes espesantes. Se emplean en farmacotecnia como estabilizantes y gelificantes.

La goma de esterculia, inicialmente introducida como sucedánea de la goma de tragacanto, tiene numerosas ventajas que justifican el amplio empleo que se hace de ella en farmacia. Así, forma dispersiones viscosas que se hinchan fuertemente, es infermentable y no se absorbe ni se degrada. Por estos motivos, está indicada en el tratamiento sintomático del estreñimiento sola o asociada a otros principios activos y se propone como coadyuvante en regímenes restrictivos en el curso de tratamientos de obesidad.

3.1.5. Mucílagos

Son polisacáridos complejos en cuya composición entran, al igual que en las gomas, azúcares, como arabinosa y manosa, junto con ácidos urónicos, especialmente galacturónico. Son constituyentes celulares normales, preexistentes en formaciones histológicas especializadas (células o canales) y frecuentes en el tegumento externo de las semillas. Además, son agentes de retención hídrica, que poseen un papel muy importan-

te en la germinación. También se han encontrado mucílagos en las raíces y hojas de diversas especies vegetales.

Entre las principales fuentes de obtención de mucílagos, se pueden destacar:

• Diversas especies del género *Plantago*. Las más representativas son la ispágula (*P. ovata*) y la zaragatona o *psyllium* (*P. psyllum* y *P. arenaria*). Las semillas y cutículas de estas especies han sido tradicionalmente utilizadas por sus propiedades laxantes debido a los mucílagos que contienen.

• Las flores de malva (*Malva silvestris*) y la raíz de altea (*Althaea oficinalis*).

• La semilla del lino (*Linum usitatissimun*).

Algunas algas son también una fuente muy importante de polisacáridos ácidos, que estructuralmente se pueden englobar en el concepto de mucílagos. Una de las características de las algas es la formación de talos complejos, que son aglomeraciones de células frecuentemente poco diferenciadas, flexibles y desprovistas de lignina. La matriz que contiene las células de las algas es glucídica y los polisacáridos que los constituyen son polímeros capaces de formar geles, para la adaptación al medio marino, ya que necesitan más flexibilidad, a diferencia de lo que ocurre en los vegetales terrestres.

Los principales tipos de polisacáridos procedentes de algas son:

• Ácido algínico y alginatos, elaborados por distintas especies de las feofíceas (algas pardas), como *Laminaria digitata*, *L. hyperborea*, *Macrocystis pyrifera, Fucus serratus* y *F. vesiculosus*.

• Carragenanos y agar-agar, polímeros de galactosa sulfatada elaborados por algas de la clase rodofíceas (algas rojas), destacando *Chondrus crispus* como fuente de carragenano y diferentes especies del género *Gelidium* para el agar-agar.

Los mucílagos son fibras solubles que, una vez extraídos, tienen una gran capacidad de formar geles.

3.1.6. Almidón resistente

El almidón se encuentra distribuido ampliamente en tubérculos, como la patata, en granos y semillas, en un gran número de frutos y en los rizomas de muchas plantas. En un principio se pensaba que la totalidad del almidón ingerido se disociaba y absorbía a lo largo del tracto intestinal. Estudios posteriores han demostrado que al menos el 10% del almidón escapa a los procesos de digestión. El almidón resistente se define como la suma de almidón y productos de su degradación que no han sido absorbidos en el intestino delgado de sujetos sanos.

Existen diferentes factores que hacen que el almidón sea resistente a la α-amilasa humana:

• **Forma física del alimento.** Existen almidones que por su localización en granos y semillas poco molidos como la patata y el plátano, o por estar en alimentos amiláceos de gran densidad como la pasta, resultan inatacables en su totalidad por las enzimas digestivas.

• **Proceso de retrogradación.** Al calentar el almidón en presencia de agua se puede producir una distorsión de las cadenas polisacarídicas, adquiriendo una conformación al azar, que provoca hinchamiento del almidón y engrosamiento de la matriz envolvente, proceso conocido como gelatinización. En estas circunstancias, el almidón gelatinizado es fácilmente atacable por las enzimas; sin embargo, al enfriarse comienza un proceso de recristalización, denominado retrogradación, muy rápido para la amilosa y lento para la amilopectina, siendo este último fenómeno responsable por ejemplo del endurecimiento del pan. Esta última fracción constituye la fracción mayoritaria del almidón resistente de los alimentos preconizados, tan abundantes en los procesos tecnológicos y culinarios que normalmente se practican.

• **Factores extrínsecos** como la masticación, que determina la accesibilidad del almidón contenido en estructuras rígidas, el tiempo de tránsito desde la boca al íleon terminal, la concentración de amilasa en el intestino o la presencia de otros componentes alimentarios pueden retrasar la hidrólisis enzimática.

Es difícil cuantificar cuanto representa el almidón resistente en el conjunto de la fibra alimentaria, puesto que depende de muchos factores, dependientes tanto de los alimentos que se ingieran (el plátano puede tener hasta un 90%) como del tipo de cocinado, ya que los alimentos precocinados lo presentan en mayor cantidad. Estudios recientes apuntan a que la cantidad de almidón que alcanza el intestino grueso puede ser de 5-10 g/día.

El almidón resistente se comporta en el colon como un sustrato importante para la fermentación bacteriana colónica, con lo que puede aportar los beneficios derivados de la misma.

3.2. Oligosacáridos

Existen dos tipos de oligosacáridos de importancia en la industria alimentaria: los fructooligosacáridos (FOS) y los galactooligosacáridos (GOS).

Los FOS más importantes son ketosa, nistosa y fructosilnistosa, constituidos por una molécula de sacarosa y una, dos o tres de fructosa, respectivamente. Éstos se encuentran en productos de origen vegetal como cebolla, alcachofa, tomate y remolacha. En la industria alimentaria se emplea un producto aislado de esta última por acción de la fructosil furanosidasa.

En los GOS se une una molécula de lactosa, también en disposición lineal, a cuatro galactosas. Son componentes presentes en la leche de vaca, obteniéndose industrialmente a partir de la lactosa mediante una transgalactosilación con una β-D-galactosidasa.

Además de FOS y GOS existen otros oligosacáridos que se ingieren con diferentes alimentos, como la inulina (cebolla), rafinosa, verbascosa y estaquiosa, que se encuentran fundamentalmente en legumbres.

A los FOS se les atribuye un importante efecto favorecedor del crecimiento de las bifidobacterias, ya que pueden ser degradadas por β-oxidasas que producen estas bacterias, y no lo son por las bacterias patógenas como *Escherichia coli* o *Clostridium perfringens*.

3.3. Lignina

Las ligninas son macromoléculas, con elevado peso molecular, que resultan de la unión de varios alcoholes fenilpropílicos (cumarílico, coniferílico y sinapílico). El acoplamiento aleatorizado de estos radicales da origen a una estructura tridimensional, de polímero amorfo, que es muy característica de las diferentes ligninas. Es el polímero natural más complejo en relación con su estructura y heterogeneidad, por lo que no es posible describir una estructura definida.

La lignina realiza múltiples funciones que son esenciales para la vida de las plantas. Por ejemplo, posee un importante papel en el transporte interno de agua, nutrientes y metabolitos. La lignina también proporciona rigidez a la pared celular y actúa como puente de unión entre las células de la madera, creando un material que es notablemente resistente a los impactos, compresiones y flexiones. Finalmente, es importante señalar que la lignificación de los tejidos permite resistir el ataque de los microorganismos, impidiendo la penetración de las enzimas destructivas de la pared celular.

A pesar de no ser un polisacárido, como se encuentra químicamente unida a las hemicelulosas de la pared de la célula vegetal y dado que colabora en algunas de las propiedades fisiológicas gastrointestinales, se incluye en el concepto de fibra dietética. No obstante, la lignina es un componente alimentario menor, hasta el punto de que la mayor parte de los alimentos que ingiere el ser humano están en estado no lignificado, siendo la única excepción los cereales de grano entero.

Las ligninas son polímeros insolubles en ácidos y en álcalis fuertes, no se digieren ni se absorben y tampoco son atacados por la microbiota del colon. Esto hace que el proceso de lignificación afecte notablemente a la digestibilidad de la fibra. En este sentido, la cantidad de lignina, que aumenta de manera ostensible en la pared celular como consecuencia de la maduración, hace a estos alimentos resistentes a la degradación bacteriana y reduce la digestibilidad de los polisacáridos fibrosos.

Una de las propiedades más interesantes de la lignina es la capacidad de ligarse a los ácidos biliares y otros componentes orgánicos, como el colesterol, retrasando o disminuyendo su absorción en el intestino delgado.

4. Tipos de fibra dietética

Las diversas fibras se pueden diferenciar por las distintas características que las definen y que han ido ampliando su concepto. En este sentido, se podrían encuadrar en función de su composición química, su situación en la planta o sus propiedades fisicoquímicas. De manera general, las fibras se suelen clasificar en función de dos de sus propiedades, que son responsables de la mayoría de sus beneficios fisiológicos: comportamiento en contacto con el agua y capacidad de fermentabilidad.

4.1. Fibras solubles e insolubles

El comportamiento de las distintas fibras en relación con el agua es muy diverso y depende de muchos factores, entre los que cabe señalar:

• Los grupos hidroxilo presentes en la fibra, que establecerán puentes de hidrógeno con las moléculas de agua.

• La presencia de grupos carboxílicos, que permitirá interacciones iónicas más fuertes a través de su unión con iones metálicos y de éstos con el agua. Esta unión además favorecerá la orientación de las moléculas de agua.

• La estructura tridimensional de los polímeros, lineal o más o menos ramificada, que permitirá la acumulación de agua en la matriz de la fibra.

Debido al diferente comportamiento en relación con el agua, se habla de fibras solubles y fibras insolubles, condicionando de forma importante sus efectos fisiológicos.

Las fibras solubles en contacto con el agua forman un retículo donde ésta queda atrapada, originando soluciones de gran viscosidad. Son fibras con elevada capacidad para retener agua, entre las que destacan las pectinas, algunas hemicelulosas, las gomas, los mucílagos y los polisacáridos procedentes de algas. La capacidad gelificante es la responsable de muchos de los efectos fisiológicos de la fibra, como la disminución de la glucemia pospandrial o la atenuación de los niveles plasmáticos de colesterol.

Las fibras insolubles se caracterizan por su escasa capacidad para formar soluciones viscosas. En contacto con el agua, las fibras poco solubles, como la celulosa, diversas hemicelulosas y la lignina, pueden retener agua, aunque esta capacidad es siempre menor que en el caso de las solubles.

Para una misma fibra algunas características físicas pueden influir en la capacidad de captar agua, así, por ejemplo, es muy importante el tamaño de la partícula ingerida. El salvado de trigo finamente molido capta un 26% menos de agua que el no molido. Finalmente, es interesante resaltar que la retención hídrica que presentan muchas fibras *in vivo* puede verse afectada por los procesos de fermentación que pueden sufrir en el intestino grueso.

Así, las fibras que contienen componentes insolubles tales como la celulosa y hemicelulosa, con menor grado de retención acuosa inicial, tienden a tener un mayor efecto sobre la retención final de agua y por tanto el peso fecal, que las solubles. La razón de este hecho, aparentemente paradójico, radica en que las fibras solubles que retienen más agua en los segmentos digestivos iniciales son fermentadas por la microbiota intestinal, con lo que se produce más masa bacteriana que contribuye a la masa fecal, pero desaparece el agua que retenían. Por el contrario, la fibra insoluble es mucho menos atacable por la microbiota, contribuyendo decisivamente a los contenidos fecales por el residuo no digerido y el agua retenida, aunque, en principio, esta última era menor en comparación con la que retenía la fibra soluble. En este sentido, el salvado de trigo, rico en celulosa y hemicelulosa no soluble, aumenta mucho el residuo no digerido, mientras que la fibra de frutas y verduras y otros polisacáridos solubles fermentan en gran proporción dando lugar a una menor masa fecal, aunque produzcan una gran masa bacteriana.

4.2. Fibras fermentables y no fermentables

La fibra dietética llega al intestino grueso de forma inalterada. Aquí, al contrario de lo que ocurre con las enzimas digestivas humanas del intestino delgado, las bacterias del colon, con sus numerosas enzimas de gran actividad metabólica, pueden digerir en mayor o menor medida la fibra dependiendo de su composición química y de su estructura.

El ciego es un receptáculo donde se almacenan las heces durante un cierto tiempo y donde las bacterias intestinales degradan la fibra consumida. Estas reacciones son tan intensas que el valor del pH desciende bruscamente de 7-7,5 a 6-6,5 y la temperatura sube aproximadamente 0,7 °C. Las moléculas complejas son desdobladas en hexosas, pentosas y alcoholes que ya no pueden ser absorbidos en el intestino grueso, sirviendo de sustrato a otras colonias bacterianas que las degradan a hidrógeno, metano y dióxido de carbono, responsables de cierto grado de flatulencia, ácido láctico y especialmente ácidos grasos de cadena corta, constituidos principalmente por acetato, propionato y butirato. En estos procesos se produce una gran cantidad de energía que es aprovechada por las bacterias que realizan esta fermentación.

Los sustratos fermentativos que utiliza la microbiota intestinal son los distintos tipos de polisacáridos que componen la fibra, así como los hidratos de carbono solubles malabsorbidos en el intestino delgado, como lactosa y fructosa, y los hidratos de carbono endógenos, como las mucinas y las glicoproteínas del intestino grueso.

Todos los tipos de fibra, a excepción de la lignina, pueden ser fermentadas por las bacterias intestinales, aunque en general las solubles lo son en mayor cantidad que las insolubles. Así, las pectinas, gomas o mucílagos tienen un grado de fermentabilidad del 80-95%, mientras que la celulosa lo tiene en un 15-50%.

En función de la fermentación bacteriana, la fibra puede dividirse en:

• Fibras no fermentables (< 10%). Entre estas, destacan fibras insolubles como la lignina y algunas fibras solubles como la carragenina, la metilcelulosa y la carboximetilcelulosa.

• Fibras parcialmente fermentables (10-70%), de las que hay que destacar las fibras insolubles ricas en celulosa. También pueden entrar en este grupo algunas fibras solubles como el agar y otras parcialmente solubles como las semillas de plantago.

• Fibras fermentables (> 70%). Están constituidas siempre por fibras solubles ricas en hemicelulosas (goma guar, glucomanano) o ricas en ácidos glucurónicos (pectinas o algunas gomas).

En la actualidad existe un consenso general al afirmar que los efectos de la fermentación en el colon de la fibra dietética son imprescindibles para el buen funcionamiento del aparato digestivo, y que su ausencia puede producir alteraciones de consecuencias importantes.

5. Propiedades fisiológicas de la fibra dietética

Como se ha comentado anteriormente, las propiedades fisiológicas de la fibra dietética se basan fundamentalmente en dos de sus características **(Figura 1)**:

• Solubilidad en agua.

• Capacidad de ser fermentadas por las bacterias intestinales.

5.1. Derivadas de su solubilidad

Las fibras solubles, dada su elevada capacidad de retener agua, rápidamente forman soluciones viscosas o geles cuando se combinan con agua. Por el contrario, las fibras insolubles o poco solubles van a actuar como una "esponja", de forma que el agua queda retenida en su matriz estructural formando mezclas de baja viscosidad. En consecuencia, la ingesta de fibra dietética va a generar un incremento en el volumen de los contenidos luminales, con la consiguiente distensión de las paredes del tracto gastrointestinal. El resultado final será la estimulación de los correspondientes reflejos que facilitan la sensación de saciedad o que aceleran el tránsito de los contenidos en el intestino delgado y grueso.

Por otra parte, la formación de soluciones viscosas por la fibra soluble en el estómago se ha propuesto como el principal factor responsable del retraso en el vaciamiento gástrico que ocurre tras su ingesta. Además, el mayor volumen y viscosidad de los contenidos que alcanzan los segmentos intestinales, junto con la aceleración del tránsito en el intestino delgado, dificulta el contacto de los nutrientes con las enzimas digestivas o con la superficie intestinal. Estas acciones pueden ser las responsables del enlentecimiento en la absorción de determinados nutrientes, como la glucosa o el colesterol. En el caso de la fibra insoluble, al incrementar la velocidad de tránsito de los contenidos intestinales y al retener compuestos en su estructura, puede igualmente dificultar la absorción de nutrientes.

5.2. Derivadas de la fermentación por bacterias intestinales

La fibra es fermentada por las bacterias cólicas, lo que origina, en primer lugar, la proliferación de determinadas poblaciones bacterianas, y, en segundo lugar, la generación de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) conjuntamente con dióxido de carbono e hidrógeno.

Los efectos beneficiosos que se derivan del crecimiento bacteriano se pueden resumir en:

1. Contribuir de forma significativa al aumento de masa en los contenidos intestinales (35-50% del total).

2. Incrementar la actividad metabólica bacteriana, lo que favorece la utilización de compuestos potencialmente tóxicos, como derivados tiólicos, fenólicos o del ión amonio, reduciendo en consecuencia sus niveles luminales.

3. Algunos de los componentes de la fibra dietética, como el almidón resistente y los fructooli-

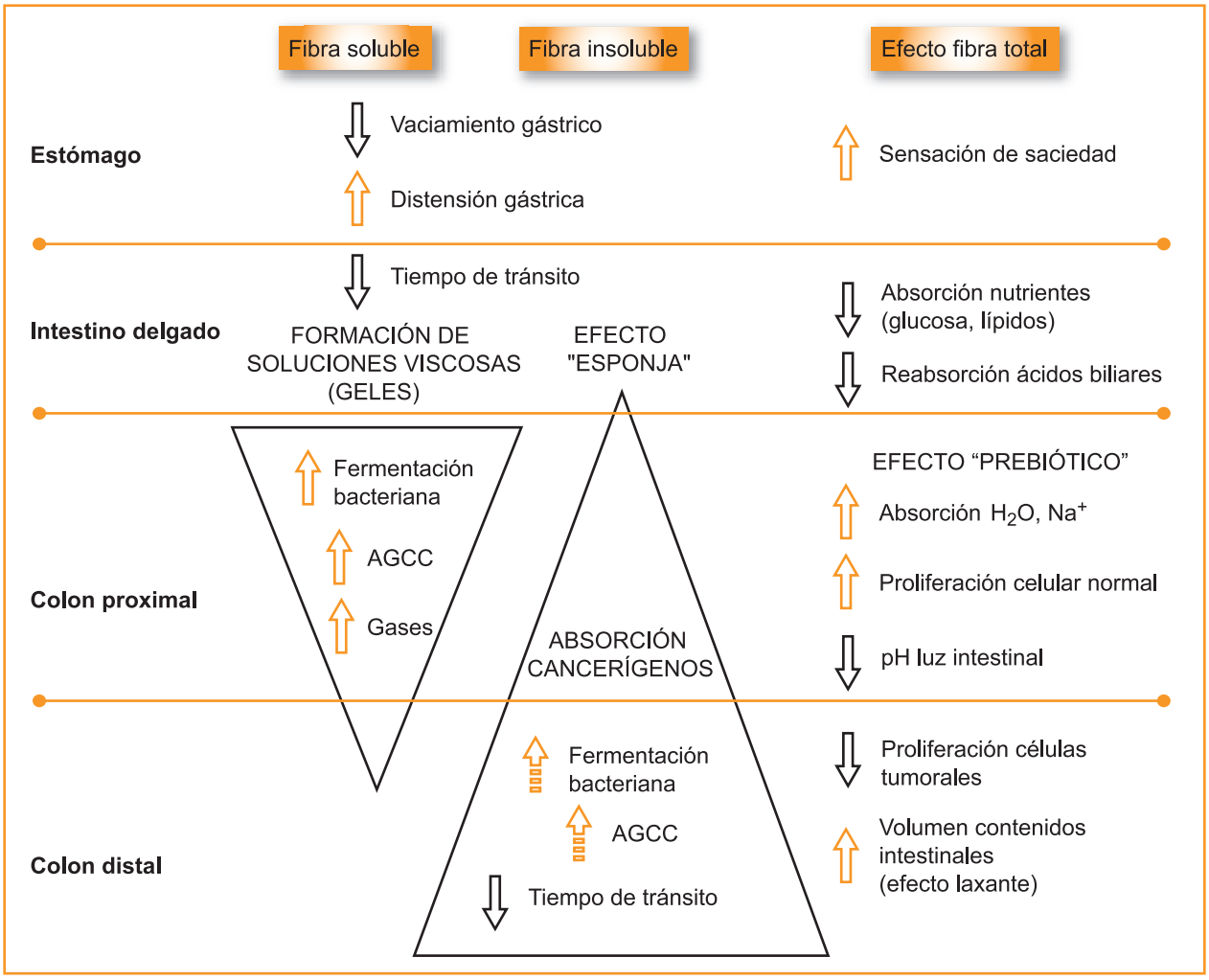


Figura 1. *Efectos fisológicos de la fibra. AGCC: ácidos grasos de cadena corta.*

gosacáridos, son fermentados por determinados tipos de bacterias de la microbiota cólica (bifidobacterias y lactobacilos) que desempeñan un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis intestinal, promoviendo su expansión de forma selectiva, lo que constituye el efecto denominado como "prebiótico".

Los AGCC que se forman como consecuencia de la fermentación de la fibra son fundamentalmente (90-95%): acetato (C_2), propionato (C_3) y butirato (C_4), en una proporción de 60:25:14, respectivamente, si bien ésta se puede alterar por cambios en la dieta. En menor proporción (5-10% del total de AGCC) se producen valerato (C_5), hexanoato (C_6) y los ácidos grasos ramificados isobutirato (iC_4) e isovalerato (iC_5).

Los AGCC presentan importantes efectos que son necesarios para el buen funcionamiento intestinal **(Figura 2)**. Así, son la principal fuente de energía para los colonocitos, siendo el butirato el preferido, dado que es metabolizado casi en su totalidad en estas células, antes de alcanzar la circulación portal, mediante oxidación hasta acetil-CoA, que se incorpora al ciclo el ácido cítrico y proporciona de este modo la energía. El metabolismo de los AGCC por parte del colonocito produce cuerpos cetónicos, dióxido de carbono y agua, compuestos muy importantes para una buena función de la mucosa del colon, ya que intervienen en mecanismos como la producción de moco, la absorción de iones, la formación de bicarbonato y, como ya se ha indicado, la producción de ener-

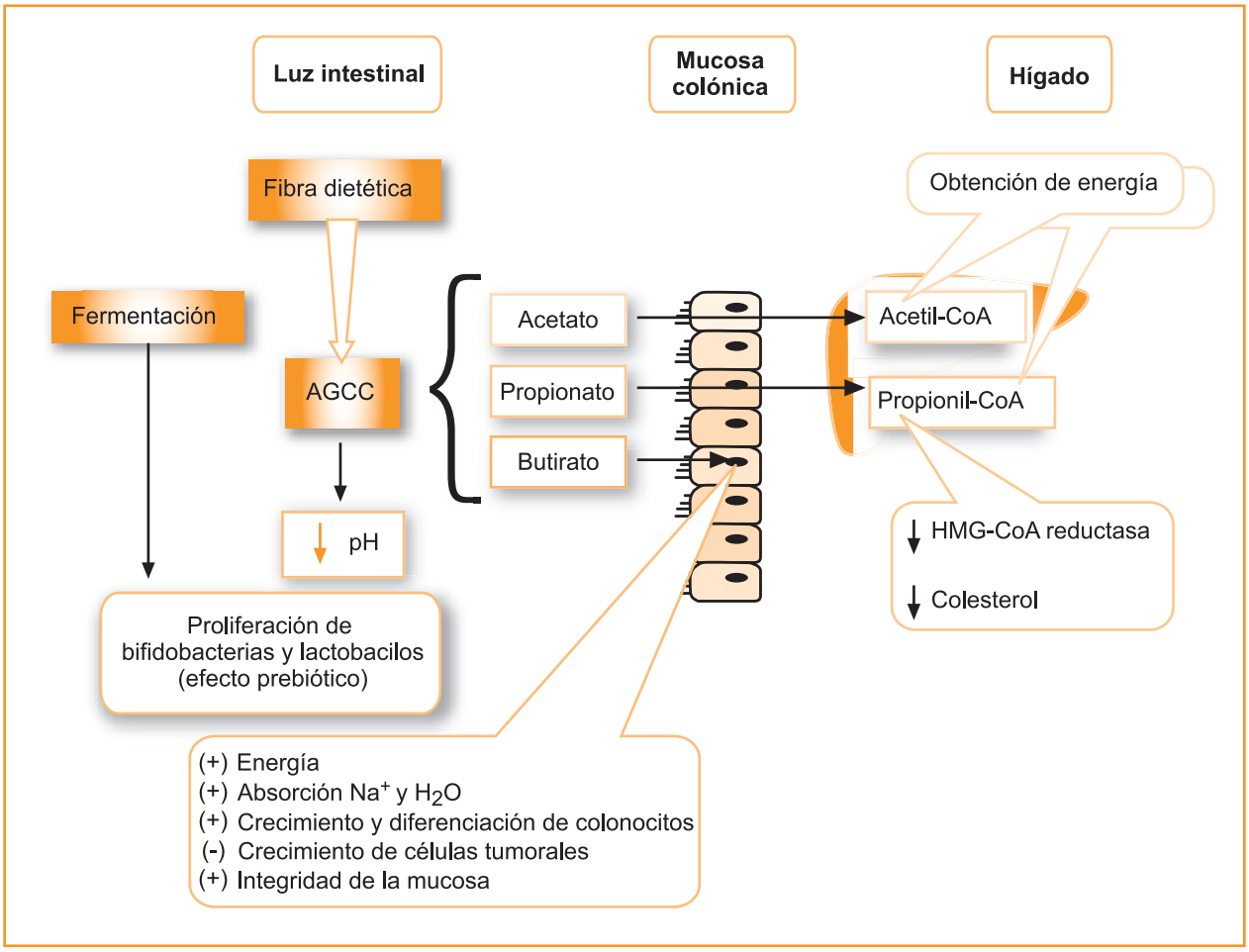


Figura 2. *Efectos derivados de la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) tras la fermentación de la fibra dietética por la microbiota intestinal.*

gía. Además, se ha postulado que el butirato ejerce otras acciones que contribuyen en el correcto funcionamiento intestinal, como, por ejemplo, incrementar la motilidad cólica, promover la absorción hidroelectrolítica, inducir la diferenciación de células epiteliales cólicas, reducir la proliferación epitelial previniendo el desarrollo del proceso tumoral, y preservar la función de barrera del intestino al facilitar la integridad de las "uniones firmes" (del inglés *tight junctions*) intercelulares de los colonocitos.

El ácido propiónico es metabolizado en el hígado actuando como precursor en la gluconeogénesis y lipogénesis. Finalmente, el ácido acético puede ser metabolizado en tejidos periféricos para obtener energía, o en el hígado para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga o de cuerpos cetónicos. Estos efectos hacen que la fibra pueda también constituirse en un sustrato energético, que según algunos estudios podría aportar hasta 300 calorías/100 g de fibra.

El lugar en el colon donde se produce la fermentación es un aspecto importante; así, las fibras muy fermentables (salvado de avena, goma guar y almidón resistente) son fermentadas principalmente en el ciego y en el colon ascendente, por lo que las concentraciones de AGCC son mayores en las primeras porciones del colon y van disminuyendo hacia la parte distal del recto. En consecuencia, los efectos beneficiosos ejercidos por estos productos de la fermentación de la fibra no se manifestarían en el colon distal. Sin embargo, cuando esta fibra muy fermentable se combina con fibra menos fermentable, el proceso de

fermentación tiene lugar a lo largo de todo el colon, lo que permite el que se produzca la exposición de estos compuestos en toda la longitud del epitelio cólico.

6. Efectos potencialmente negativos de la fibra dietética

Entre los efectos potencialmente negativos de la fibra se pueden resaltar la reducción en la absorción de vitaminas, minerales y ciertos aminoácidos esenciales. Por otra parte, las dietas ricas en fibra aportan una menor cantidad de calorías. Es muy improbable que un adulto sano que consume fibra en los rangos propuestos tenga problemas en la absorción de nutrientes; sin embargo, las recomendaciones de la fibra de 25 g/día pueden no ser apropiadas para los ancianos, ya que se han hecho muy pocos estudios en esta población.

Generalmente, el incremento en el consumo de fibra se propone para normalizar el tránsito intestinal, lo que debería evitar el estreñimiento o la diarrea presente. Sin embargo, se han observado casos de diarreas cuando se consumen cantidades excesivas de fibra. Por otra parte, se han descrito algunos casos de obstrucción intestinal causados por bezoar fecal con suplementos en fibra, especialmente si no beben suficiente agua o reciben conjuntamente inhibidores de la motilidad intestinal.

La fermentación de la fibra dietética por las bacterias anaeróbicas en el intestino grueso produce gases que pueden relacionarse con molestias gastrointestinales debido a la distensión y la flatulencia. Por ello, el incremento en el consumo de fibra debe realizarse gradualmente, para que el tracto gastrointestinal se vaya adaptando poco a poco.

Finalmente, merece la pena señalar que las fórmulas enterales ricas en fibra pueden causar bloqueo de las sondas utilizadas. Este hecho es más problemático con las fibras muy viscosas. Por otra parte, como las fórmulas que contienen fibra suelen ser más caras que las estándares, existen muy pocos datos clínicos publicados que demuestren la efectividad de utilizar estas fórmulas durante mucho tiempo con objeto de conseguir sus potenciales efectos protectores.

7. Recomendaciones en el consumo de fibra dietética

El concepto actual de fibra dietética incorpora como elemento primordial su capacidad de promover efectos beneficiosos para la salud, idea que surgió en los años 70 del siglo pasado, cuando diversos estudios epidemiológicos encabezados por los doctores Burkitt y Trowell sugirieron que la fibra podía presentar beneficios adicionales para muchas enfermedades propias del mundo occidental, y que acuñaron bajo el concepto de "enfermedades de la opulencia" **(Figura 3)**:

- Enfermedades del tracto digestivo: estreñimiento crónico, cáncer de colon, diverticulosis, apendicitis, hernia de hiato, hemorroides, varices, piedras en la vesícula...
- Obesidad.
- Enfermedades cardiovasculares.
- Diabetes.

La cantidad de fibra que se ingiere en los países desarrollados es muy inferior a la recomendada, sobre todo en el norte de Europa y América; no obstante, los países del sur de Europa han presentado, tradicionalmente, una ingesta de fibra mayor que el resto de países occidentales, debido a la dieta mediterránea propia de la zona.

Los diferentes comités de expertos en nutrición proponen la instauración de una dieta "saludable", en la que se incremente el consumo de alimentos ricos en fibra como cereales, legumbres, verduras y frutas. El aporte de fibra es mejor realizarlo mediante el consumo de alimentos que por la administración de suplementos, ya que en los primeros existen otras sustancias como vitaminas, minerales o antioxidantes, que podrían contribuir a algunos de los efectos beneficiosos relacionados con su consumo. Además, cuando se ingieren alimentos con fibra se sustituyen aquellos ricos en grasa y proteínas menos saludables.

No se han establecido unas recomendaciones específicas del consumo de fibra, pero se sugiere que la ingesta en un adulto debe oscilar entre 20 y 35 g/día, o bien, basándose en el contenido calórico de la dieta, de 10 a 13 g de fibra dietética al día por cada 1.000 kcal. En el caso de los niños mayores de 2 años, se recomienda el consumo de la cantidad de fibra que resulte de sumar 5 g/día a la edad del niño, de forma que alcance consumos de 25 a 35 g a partir de los 20 años de edad. Hasta el momen-

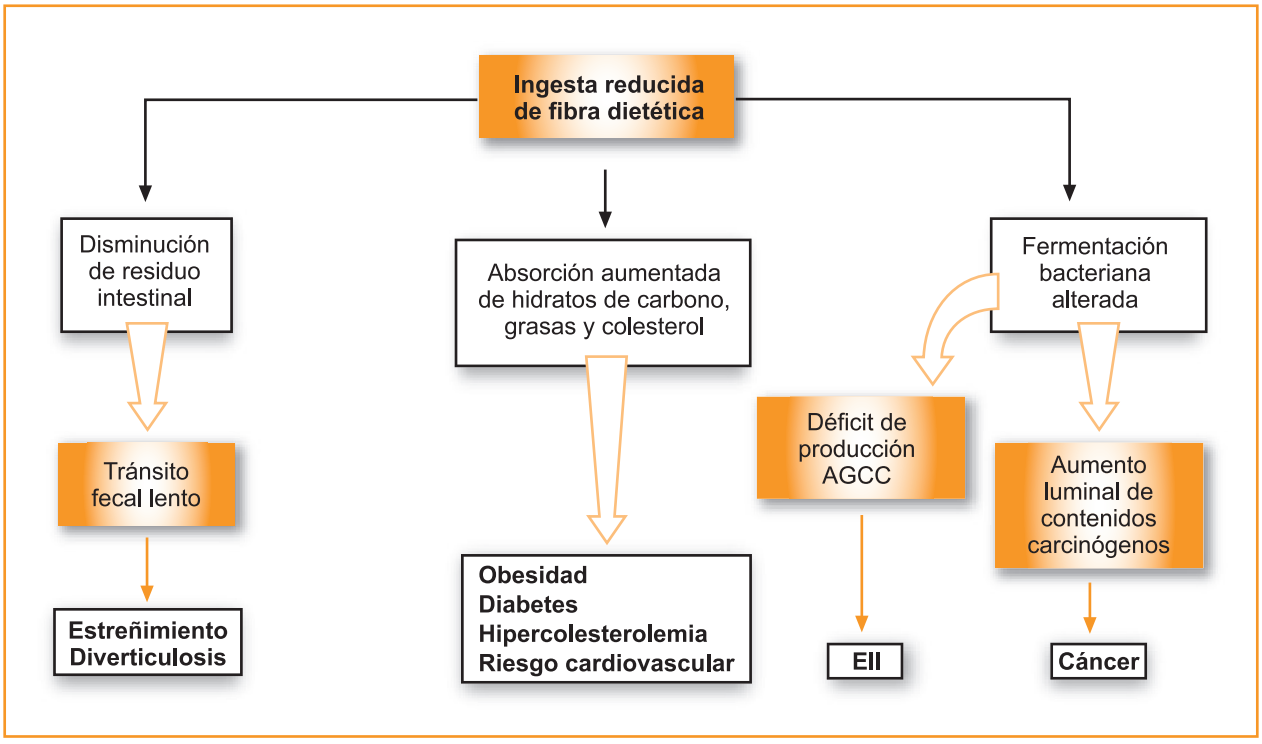


Figura 3. *Enfermedades relacionadas con el déficit de fibra en la dieta. AGCC: ácidos grasos de cadena corta; EII: enfermedad inflamatoria intestinal.*

to no existen estudios que definan las cantidades idóneas de consumo de fibra en niños menores de 2 años, aunque una estrategia adecuada consiste en introducir, de forma progresiva en la dieta sólida del niño, frutas y verduras variadas, así como cereales fáciles de digerir.

La fibra consumida debe ser equilibrada entre soluble e insoluble (25% y 75%, respectivamente), y se recomienda que provenga de todos los tipos de alimentos que la contienen: cereales, frutas, verduras y legumbres **(Tabla 2)**.

Algunas de las recomendaciones prácticas para el consumo de alimentos ricos en fibra serían:

• Tomar diariamente al menos seis raciones de derivados de cereales, tres de verduras y dos de fruta.

• Entre lo que se considera una ración de cereales se puede incluir una rebanada de pan, 30 g de cereales de preparación rápida o media taza de cereal cocinado, como arroz o pasta. Dado que los productos hechos con semillas refinadas (pan blanco, arroz blanco o la mayoría de las pastas) presentan un reducido contenido en fibra, es preferible consumir derivados elaborados con salvado (de trigo o de avena) o con cereal entero (pan integral, harina de avena, pastas integrales, arroz integral) dada la mayor cantidad de fibra que aportan.

• Una ración de verduras está constituida por: una taza de verduras crudas de hoja, media taza de verduras troceadas o cocinadas, tres cuartos de taza de zumo vegetal.

• Las legumbres, como judías, lentejas o garbanzos, son excelentes fuentes de fibra dietética, recomendando su consumo varias veces a la semana. El contenido en fibra de media taza de legumbres equivale, de forma general, a una ración de verduras.

• Una ración de fruta puede estar constituida por una pieza del tipo de la manzana o de la naranja, por media taza de macedonia o fruta enlatada, o por tres cuartos de taza de zumo de frutas. Es preferible el consumo de frutas completas al de zumos.

• Es importante resaltar que el mayor consumo de compuestos ricos en fibra debe acompañarse de una mayor ingesta de líquidos, preferentemente agua (2-3 l/día).

Tabla 2. CONTENIDO EN FIBRA (TOTAL, SOLUBLE E INSOLUBLE) DE ALGUNOS ALIMENTOS

ALIMENTO	Fibra total (g) (100 g)	Fibra total (g) (raci□n)	Soluble (g/100 g)	Insoluble (g/100 g)
Verduras				
Br□col cocido	3,5	5/taza	0,4	3,1
Col cocida	2,0	2,9/taza	0,2	1,8
Coliflor	1,7	2,1/taza	0,3	1,4
Cebolla	1,3	1,3/taza	-	1,3
Espinacas	2,2	4,4/taza	0,8	1,4
Guisantes cocidos	4,5	7,2/taza	1,2	3,3
Jud□as verdes	2,2	2,2/taza	0,9	1,3
Lechuga	0,6	0,8/taza	0,3	0,3
Patata hervida	1,0	1,4/pieza	0,6	0,4
Pepino con piel	0,8	0,8/pieza	0,2	0,6
Pimiento verde	1,3	1,0/pieza	0,3	1,0
Tomate	1,5	1,8/pieza	0,4	1,1
Zanahoria cruda	3,0	4,6/taza	0,3	2,7
Frutas				
Albaricoque	1,7	1,8/3 piezas	1,0	0,7
Cereza	1,2	1,2/15 piezas	0,7	0,5
Ciruela	1,2	1,2/2 piezas	0,4	0,8
Fresa	2,0	3,0/taza	0,8	1,2
Manzana (con piel)	2,5	3,5/pieza	0,2	2,3
Manzana (sin piel)	2,1	2,9/pieza	0,3	1,8
Melocot□n (con piel)	2,1	2,1/pieza	0,8	1,3
Melocot□n (sin piel)	1,4	1,4/pieza	0,7	0,8
Mel□n	0,4	0,8/2 rodajas	0,1	0,3
Naranja	2,0	2,6/pieza	1,2	0,8
Pera (con piel)	2,3	3,9/pieza	0,7	1,7
Pera (sin piel)	1,9	3,0/pieza	0,6	1,3
Pi□a	1,4	2,4/taza	0,8	0,6
Pl□tano	2,1	2,5/pieza	0,6	1,5
Uva	0,8	1,6/10 piezas	0,4	0,4
Legumbres				
Garbanzos	6,0	3,0/□ taza	1,5	4,5
Jud□as blancas	7,9	7,9/□ taza	3,7	4,2
Lentejas	3,7	1,9/□ taza	1,5	2,2
Frutos secos				
Almendras	7,4	3,7/□ taza	1,1	6,3
Cacahuetes	8,1	5,8/□ taza	2,4	5,7
Cereales y derivados				
Arroz	0,3	0,6/taza	-	0,3
Arroz integral	1,2	2,4/taza	-	1,2
Cereales “corn flakes”	2,6	0,8/taza	0,6	2,0
Cereales “bran flakes”	19,5	6,5/taza	2,0	17,5
Pan blanco	2,6	0,8/rebanada	0,6	2,0
Pan integral	7,1	2,3/rebanada	1,5	5,6
Macarrones	2,0	1,0/taza	0,3	1,7

8. Aplicaciones terapéuticas de la fibra dietética

8.1. Fibra dietética y alteraciones gastrointestinales

8.1.1. Estreñimiento

El consumo adecuado de fibra dietética incrementa el peso de los contenidos intestinales, facilitando el que se produzca la evacuación normal de los mismos. De hecho, cuando la dieta aporta una pequeña proporción de fibra, el volumen de heces se reduce, lo que origina dos efectos negativos:

1. El tiempo de tránsito intestinal aumenta considerablemente, de forma que los residuos fecales permanecen mucho más tiempo en el colon, incrementando la absorción del agua que contienen y las heces serán escasas, resecas y duras.

2. El reflejo defecatorio se inhibe debido al poco peso y pequeño volumen de las heces que no distienden la ampolla rectal suficientemente, por lo que la defecación será infrecuente y dificultosa.

Tanto la fibra fermentable como la poco fermentable es eficaz en la prevención y tratamiento del estreñimiento, pero el mecanismo por el que ejercen su efecto es distinto. La fibra poco fermentable, en general insoluble, incrementa la masa intestinal de forma directa y, de esta forma, acelera el tránsito intestinal al estimular los movimientos propulsores y disminuir los movimientos mezcladores. La fibra muy fermentable, en general soluble, es la que más aumenta de volumen por su gran capacidad de retener agua, pero su estructura se destruye al ser fermentada en el colon y pierde esa propiedad. No obstante, aumentan la masa intestinal al favorecer el crecimiento bacteriano. Además, los AGCC generados como consecuencia de su fermentación tienen un efecto directo sobre la motilidad intestinal cólica y los distintos gases (CO_2, H_2 y CH_4) que se producen impulsan la masa fecal al actuar como bomba de propulsión.

Por todos estos mecanismos, la fibra consigue que las deposiciones sean más frecuentes y las heces más voluminosas y blandas. De hecho, los suplementos de fibra (salvado de cereales, semillas de *Plantago ovata*, metilcelulosa) constituyen la medida de elección en el tratamiento del estreñimiento funcional, o el que se genera en situaciones especiales como la gestación o cuando la ingesta de comida se reduce como ocurre en los ancianos con poca actividad física.

8.1.2. Diverticulosis

El desplazamiento de los contenidos intestinales a través del intestino grueso es estimulado, en parte, por la presencia de residuos en la luz intestinal. Cuando existe un residuo insuficiente como consecuencia de una ingesta deficiente de fibra dietética, el colon responde con la generación de contracciones más fuertes para poder propulsar distalmente el pequeño volumen de contenidos intestinales. La cronificación de esta situación lleva a una hipertrofia muscular cólica y alteración de su funcionalismo, junto con un aumento de la presión intracólica. Este último hecho promueve la formación de los divertículos o herniaciones de la capa mucosa, como resultado de la salida de la mucosa a través de la capa muscular circular intestinal en los puntos débiles de la musculatura, esto es, en los lugares donde los vasos sanguíneos perforan la pared muscular.

La ingesta adecuada de fibra previene la formación de divertículos al aportar masa suficiente a los contenidos intestinales en el colon, ya que se requiere una menor fuerza contráctil de tipo propulsivo para promover su avance distal. Además, la suplementación de fibra es la opción terapéutica en el tratamiento de diverticulosis cólica, ya que, aunque los divertículos ya formados no son restaurados a un estado de normalidad, la masa suministrada previene la formación de nuevos divertículos, disminuye la presión cólica, reduciendo así la posibilidad de que un divertículo formado "estalle" o se inflame, agravando la situación del paciente.

8.1.3. Enfermedad inflamatoria intestinal

El término enfermedad inflamatoria intestinal (EII) engloba fundamentalmente dos entidades patológicas: la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa (CU). Ambas se caracterizan por manifestar una inflamación crónica del intestino, con periodos de exacerbación seguidos de intervalos más o menos prolongados de remisión de los síntomas. La etiología de estas enfermedades sigue considerán-

dose desconocida, aunque se ha propuesto la interacción de factores genéticos, inmunológicos y dietéticos o ambientales, lo que explicaría la mayor incidencia en las áreas urbanas de los países industrializados. Independientemente de la causa que la genera, está establecido que antígenos presentes en el lumen, probablemente procedentes de la microbiota bacteriana intestinal, originan una respuesta inmune exagerada y descontrolada, que se caracteriza por una activación de la síntesis y liberación de numerosos mediadores proinflamatorios: eicosanoides como el leucotrieno B_4 (LTB_4), el factor activador plaquetario (PAF), radicales libres y citokinas proinflamatorias tales como las interleukinas (IL) 1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, el interferón-γ (IFN-γ) y el factor de necrosis tumoral (TNF-α).

Dado que los AGCC, y en particular el butirato, participan en el funcionamiento intestinal normal y constituyen la principal fuente de energía para el colonocito, se ha intentado establecer una relación entre la EII y la alteración en la producción de AGCC. Algunos estudios han encontrado que en los pacientes con CU las concentraciones de AGCC en el lumen cólico son inferiores a las normales, lo que se puede deber a la ingesta de una dieta pobre en fibra. Esto tendría dos consecuencias:

1. La alteración de la microbiota cólica, hacia especies potencialmente productoras de sustancias antigénicas.

2. La falta de la principal fuente de energía para el colonocito que le haría perder su papel de barrera, facilitando la entrada de antígenos que favorezcan la respuesta inflamatoria.

En la actualidad no se dispone de estudios epidemiológicos que establezcan una relación entre la cantidad de fibra dietética ingerida y la incidencia de EII. Sin embargo, se han realizado distintos ensayos clínicos con fibra dietética en enfermos con colitis ulcerosa.

En 1978 se realizó un primer estudio con el salvado de avena, para valorar su efecto en el mantenimiento de la remisión. La conclusión de este estudio fue que el salvado de avena no prolongaba el tiempo de remisión de la enfermedad; aunque la ausencia de efecto podía atribuirse a que se trata de una fibra insoluble, poco fermentable y, por tanto, que no aumenta en gran medida la producción de butirato, siendo su principal efecto el aumento de la masa fecal.

Ensayos posteriores realizados con las cutículas y semillas de *Plantago ovata* en pacientes con colitis ulcerosa en remisión han demostrado un efecto beneficioso tanto en aliviar los síntomas de los pacientes, con la normalización del tránsito intestinal, como en mantener la remisión clínica con una eficacia similar al presentado por mesalazina, fármaco utilizado en la terapia de la EII. La respuesta favorable se podría explicar, principalmente, por el incremento de la producción de AGCC, sobre todo en el colon ascendente. Otros estudios han sido realizados en pacientes con colitis ulcerosa activa en el que se investigó la seguridad y eficacia de la administración de 30 g/día de fibra procedente de cebada germinada. Los pacientes experimentaron una mejoría en los parámetros clínicos estudiados que se relacionó con un incremento en la concentración fecal de butirato.

8.2. Fibra dietética y obesidad

La obesidad es el trastorno metabólico más frecuente en los países industrializados, y puede constituir una verdadera enfermedad al asociarse a otros factores de riesgo. Así, entre las personas con sobrepeso es más frecuente la hipertensión, la hiperlipidemia, la hipercolesterolemia, las cardiopatías, la diabetes, la aterosclerosis, las patologías respiratorias, los problemas osteoarticulares y los cánceres de colon y próstata, en hombres, y de endometrio, vesícula biliar, cérvix, ovario y mama, en mujeres (*ver Capítulo 4.18*).

La obesidad es un problema que se debe a un desequilibrio entre el aporte calórico de la dieta y su utilización. Su elevada incidencia en los países industrializados se relaciona con un aumento progresivo del consumo de grasas y azúcares refinados, significativamente mayor en las personas obesas, acompañado de una disminución de la ingesta de verdura y fruta, lo que condiciona un déficit de fibra en la dieta. Las únicas medidas para el tratamiento de la obesidad son la restricción calórica y el ejercicio físico. En este sentido, la fibra ayuda a controlar la ingesta calórica por diversos mecanismos, entre los que se pueden destacar los siguientes:

1. La fibra tiene una elevada capacidad para retener agua y un bajo poder energético, con lo que contribuye a disminuir la densidad calórica de la dieta.

2. Los alimentos ricos en fibra necesitan una mayor masticación y, por lo tanto, un mayor tiempo para su ingestión. Esta mayor masticación, a la vez, estimula la secreción de saliva y de jugo gástrico, que favorecen la sensación de saciedad.

3. Se reduce la velocidad del vaciamiento gástrico, disminuyendo como consecuencia el hambre y prolongando la sensación de saciedad.

4. La fibra disminuye la absorción de ácidos grasos y de hidratos de carbono en el intestino delgado, reduciendo el aporte calórico.

5. La fibra aumenta el volumen fecal y corrige el estreñimiento que muchos pacientes sufren en el transcurso de las dietas de adelgazamiento.

Los diferentes estudios epidemiológicos han confirmado la eficacia de la fibra dietética en el control de la obesidad. Así, en un estudio llevado a cabo en Iowa (EE UU) con enfermeras (*Iowa Women's Health Study*) se comprobó que la ingesta de cereales sin refinar estaba inversamente relacionada con el peso corporal y la distribución de grasa en el organismo, en comparación con la relación directa observada con el consumo de cereales refinados y el peso corporal. Igualmente, otros estudios que valoraban el riesgo cardiovascular (*Coronary Artery Risk Development in Young Adults* y *Framingham Offspring Study*) han establecido que el consumo de cereal con salvado estaba inversamente relacionado con el índice de masa corporal así como con las concentraciones séricas de insulina; hecho este último importante dado que los niveles elevados de insulina puede favorecer la obesidad al alterar la fisiología del tejido adiposo e incrementar el apetito.

8.3. Fibra dietética y diabetes mellitus

La diabetes mellitus (DM) es un desorden metabólico de etiología múltiple caracterizado por una elevación persistente de los niveles de glucosa en sangre (hiperglucemia), que ocurre como consecuencia de una deficiencia absoluta o relativa en insulina o la existencia de una resistencia periférica a la acción de la misma. Es una enfermedad crónica muy común y extremadamente seria, representando un problema personal y de salud pública de enormes proporciones. La importancia de la diabetes se debe no sólo al problema agudo provocado por las alteraciones metabólicas, sino a una serie de complicaciones que aparecen a largo plazo y que afectan fundamentalmente a ojos, neuronas, vasos sanguíneos y riñones, lo que origina una gran morbilidad y mortalidad (*ver Capítulo 4.21*).

Diversos estudios observacionales apoyan la idea de que existe una relación entre consumo de alimentos pobres en fibra y aparición de diabetes mellitus. Así durante y después de la II Guerra Mundial, época de escasez de alimentos que hizo aumentar de forma paralela el consumo de cereales y otros productos ricos en fibra, se observó una disminución de la mortalidad debida a diabetes mellitus en diversos países europeos.

En poblaciones rurales del continente africano la diabetes tiene una incidencia baja, pero se ha comprobado que cuando estos grupos étnicos se trasladan a vivir a las ciudades industrializadas y adoptan una dieta con un bajo contenido en fibra, la frecuencia de esta enfermedad aumenta de forma considerable. Obviamente, existen otros factores, como el elevado consumo de grasas saturadas, la obesidad y el bajo grado de actividad física, que pueden contribuir al aumento de la frecuencia de diabetes en estos grupos poblacionales.

8.3.1. Diabetes mellitus tipo 1

En estudios antiguos realizados en pacientes con diabetes tipo 1, en los que el control de la glucemia no era intensivo, se demostraba que el consumo de altas cantidades de fibra (> 30 g/día) presentaba un efecto positivo en los niveles de glucemia. Sin embargo, en pacientes diabéticos tipo 1 sometidos a terapia intensiva de insulina, ingestas de hasta 56 g de fibra no presentaron efectos beneficiosos en el control de la diabetes. Por ello, en estos pacientes bien controlados, no hay razón para proponer una dieta diferente a la que sería saludable para la población en general.

8.3.2. Diabetes mellitus tipo 2

Diversos estudios prospectivos aportan evidencias muy consistentes que apoyan el papel de la fibra procedente de cereales en la prevención de la diabetes tipo 2, no encontrando diferencias cuando ésta procedía de frutas o verduras. La reducción

Tabla 3. ESTUDIOS PROSPECTIVOS QUE RELACIONAN EL CONSUMO DE FIBRA CON LA INCIDENCIA DE DIABETES TIPO 2

Estudio	Descripción muestra	Cambios en el riesgo de diabetes tipo 2 (entre quintil más alto y más bajo)
Meyer *et al.* Iowa Women's Health Study. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 921-30	Mujeres posmenopáusicas (n = 35.988)	Cereal entero: 21% reducción Cereal refinado: 13% reducción (n.s.) Fibra total en la dieta: 22% reducción
Salmeron *et al.* Nurses' Health Study. *Diabetes Care* 1997; 20: 545-50	Mujeres 40-65 años (n = 65.173)	Fibra total: 22% reducción Fibra cereales: 28% reducción Fibra frutas: 13% reducción (n.s.) Fibra verduras: 17% (n.s.)
Liu *et al.* Nurses' Health Study. *Am J Publ Health* 2000; 90: 1409-15	Mujeres 38-63 años (n = 75.521)	Cereal entero: 27% reducción Cereal refinado: 11% incremento (n.s.)
Salmeron *et al.* Health Professionals Study. *JAMA* 1997; 277: 472-7	Hombres 40-75 años (n = 42.759)	Fibra total: 2% reducción (n.s.) Fibra cereales: 30% reducción Fibra frutas: sin relación (o.r.: 1,01) Fibra verduras: 12% incremento (n.s.)

n: número de pacientes; n.s.: no significativo; o.r.: odds ratio.

en el riesgo de diabetes entre las ingestas más altas y más bajas de este tipo de fibra oscila entre el 20-30% **(Tabla 3)**.

El papel beneficioso de la fibra se ha demostrado también en pacientes que presentan diabetes establecida y no únicamente como agentes preventivos. Así, Chandalia *et al.*, en el año 2000, realizan un ensayo aleatorizado y cruzado con 30 pacientes diabéticos tipo 2, con el objeto de comprobar si el incremento en el consumo de fibra mejoraba el control de la glucemia. Se suministraron 2 dietas durante 6 semanas, con 1 semana de lavado entre ellas, una dieta alta en fibra (50 g/día) y la dieta recomendada por la Asociación Americana de Diabetes, que contenía 24 g de fibra. El incremento en fibra se aportaba con pan integral y cereales, productos de salvado, verduras y frutas. La media de glucemia prepandrial se redujo un 8,9% y el área bajo la curva durante 24 horas para la glucosa y la insulina fue un 10 y 12% menor, respectivamente, para la dieta alta en fibra.

Como resumen, se puede proponer que el incremento en el consumo de fibra está aconsejado en diabéticos tipo 2. Aumentos importantes en su ingesta (aprox. 50 g/día) han demostrado efectos beneficiosos en el control de la glucemia, insulinemia y lipemia.

Por ello, actualmente se están empleando suplementos de fibra soluble como el *psyllium*, la goma guar o le glucomanano para el control del paciente diabético tipo 2.

Sin embargo, se desconoce si estos altos incrementos en el consumo de fibra dietética pueden ser mantenidos durante mucho tiempo.

8.3.3. Mecanismos de acción

Aunque todavía no están del todo claros cuáles son los mecanismos intrínsecos por los que la fibra dietética es capaz de mejorar la homeostasis de la glucosa en los individuos diabéticos, se sabe que esta propiedad tiene un origen multifactorial. Parece que la fracción soluble es la más eficaz en el control de la glucemia, proponiéndose como posibles factores **(Figura 4)**:

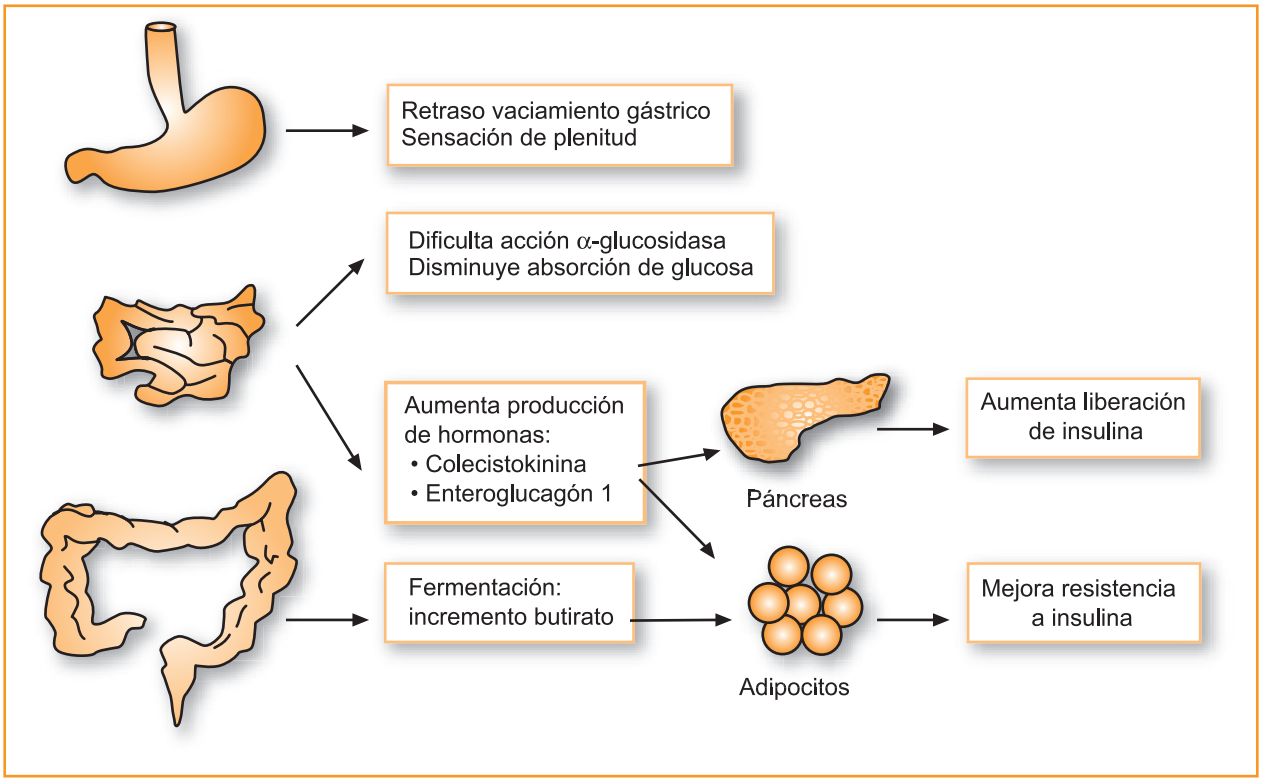


Figura 4. *Diferentes mecanismos por los que la fibra dietética presenta efectos beneficiosos en el paciente diabético tipo 2.*

• Retraso en el vaciamiento gástrico, que daría una sensación de plenitud, disminuyendo la ingesta de alimentos.

• Atrapamiento de los hidratos de carbono en la matriz de la fibra, que dará lugar a una reducción en la accesibilidad de las enzimas intestinales para hidrolizar los azúcares y a una menor difusión de la glucosa liberada. Todo ello llevará a una disminución de la absorción de la glucosa.

• Incremento de la liberación de la insulina y disminución de la resistencia a esta hormona. Este factor parece jugar un papel muy importante en el control de la diabetes, habiéndose demostrado en numerosos trabajos la disminución que la fibra produce en la insulinorresistencia que se manifiesta en el diabético tipo 2.

Algunos de estos efectos se deben a la capacidad de la fibra de estimular la liberación de varias hormonas gastrointestinales como la colecistoquinina (CCK) y el péptido tipo glucagón 1 (GLP 1). Estas hormonas han demostrado que ralentizan el vaciamiento gástrico, incrementan la liberación de insulina e inhiben la secreción de glucagón por el páncreas.

Por otra parte, promueven la captación de glucosa por los tejidos periféricos y reducen la aportación hepática de glucosa, efectos que mejorarían la resistencia a la insulina.

También se ha propuesto que la fibra mejoría la resistencia a la insulina debido a la formación de ácidos grasos de cadena corta, especialmente butirato, que se producen tras su fermentación. Se ha demostrado, en diversos ensayos *in vitro* e *in vivo*, que el butirato reduce la producción del TNFα y esta citokina favorece la aparición de resistencia a la insulina en el adipocito. Por tanto, el aporte de fibra incrementaría la formación de butirato, y éste inhibiría la producción de TNFα, disminuyendo la resistencia a la insulina. El principal problema de esta teoría es demostrar que el butirato formado en la fermentación intestinal llega en cantidad suficiente a los tejidos periféricos.

Finalmente, se debe destacar que el efecto beneficioso de algunos alimentos ricos en fibra, como los cereales, puede ser debido a su actuación sinérgica con otros componentes presentes en los mismos, como la vitamina E o minerales como el Mg.

8.4. Fibra dietética y enfermedad cardiovascular

La enfermedad cardiovascular (ECV) es uno de los motivos más frecuentes de consulta médica, y la principal causa de muerte a partir de los 45 años en España y en la mayoría de los países industrializados. En la actualidad, se han establecido una serie de factores de riesgo que guardan relación con la aparición de la ECV, tales como: características genéticas, edad, elevada concentración de colesterol en plasma, consumo de tabaco, inactividad física, obesidad e hipertensión arterial.

Algunos de estos factores de riesgo, como la edad o las características genéticas, son imposibles de modificar; sin embargo, una adecuada actuación sobre los factores ambientales, como la eliminación del hábito tabáquico, la realización de ejercicio aeróbico, la pérdida de peso, la reducción de los niveles de colesterol o el adecuado control de la presión arterial, puede reducir de forma considerable la aparición de esta enfermedad (*ver Capítulos 4.19 y 4.20*).

Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado que la fibra dietética, y en especial su fracción soluble, disminuye los niveles de LDL-colesterol en sangre, ejerciendo un papel preventivo de la aterosclerosis. Sin embargo, aunque el papel protector de la fibra está relacionado principalmente con la reducción de los niveles plasmáticos de colesterol, existen, además, otros factores de riesgo que se encuentran mejorados por el consumo de fibra, como son la reducción de peso, la disminución de la presión arterial y la mejora en la resistencia a la insulina.

8.4.1. Enfermedad coronaria

Las primeras observaciones que relacionan el beneficio entre el consumo de fibra y la enfermedad coronaria se sugirieron hace casi 50 años, cuando los epidemiólogos Burkitt y Trowell encontraron en una población rural de África, que recibía un aporte de fibra en la dieta superior a los 100 g diarios, que la incidencia de enfermedades coronarias era mucho más baja que en otras poblaciones cuyo consumo diario en fibra era menor.

Estas y otras investigaciones llevaron a Trowell a proponer, hace algo más de 25 años, la "hipótesis de la fibra", según la cual existe una relación causal entre la reducción de las enfermedades coronarias y el elevado contenido en fibra de la dieta, que abrió el campo de investigación de nuevas líneas que confirmaran y caracterizaran estos hallazgos.

El primer estudio prospectivo que se llevó a cabo para abordar la relación entre el consumo de fibra y la aparición de enfermedad coronaria, fue realizado por Morris *et al.* en 1977, en un total de 337 hombres, controlados durante 20 años. Los autores observaron una relación inversa entre la cantidad de fibra consumida y la morbimortalidad por enfermedad coronaria. Desde entonces se han realizado multitud de trabajos epidemiológicos que confirman esta hipótesis **(Tabla 4)**. La mayoría de ellos encuentran una reducción en el riesgo de padecer enfermedad coronaria que oscila entre un 40-48% cuando se compara el consumo más alto de fibra (media entre 23 y 29 g/día) con el más bajo (media 11,5-12,5 g/día). En estos trabajos se propone que un incremento en el consumo diario de 10 g de fibra disminuye el riesgo de enfermedad coronaria en un 19%. De las diferentes fuentes de fibra utilizadas, cereales, frutas y verduras, la de cereal fue la que mostró una asociación más fuerte con la reducción en el riesgo de enfermedad coronaria, disminuyendo ésta un 29%, por cada 10 g de incremento diario en su consumo.

8.4.2. Ictus cerebral

Algunos estudios epidemiológicos demuestran que el consumo de fibra de cereal entero reduce la incidencia de ictus cerebral en proporción que puede llegar a ser de prácticamente un 50%, entre los quintiles más altos y más bajos en su consumo, no existiendo protección cuando los cereales eran refinados. En estos estudios también se demuestra que la ingesta conjunta de fibra procedente de fruta y verdura no incrementaba la protección que los cereales presentaban frente a la aparición de ictus cerebral **(Tabla 4)**.

En el año 2003, Mozaffarian *et al.* han publicado un estudio cohorte donde investigan el efecto preventivo del consumo de fibra y el riesgo de ECV, pero en una población anciana (> 65 años). Este trabajo es muy interesante, ya que la influencia de los hábitos dietéticos en estos individuos suele ser

Tabla 4. ESTUDIOS PROSPECTIVOS QUE RELACIONAN EL CONSUMO DE FIBRA CON LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Estudio	Parámetro	Fibra total	Cereal	Fruta	Verdura
Mozaffarian. *JAMA* 2003; 289	Riesgo ECV		↓(+)	=	=
Mechant. *J Nutr* 2003; 133	Riesgo EAP		↓(+)	=	=
Liu. *JAMA* 2000; 284	Riesgo ictus		↓(+)		
Liu. *Am J Clin Nutr* 1999; 70	Riesgo EC		↓(+)		
Jacobs. *Am J Publ Health* 1999; 89	Mortalidad EC Mortalidad ECV		↓(+) ↓(+)		
Wolk. *JAMA* 1999; 281	IM no fatal EC fatal EC total	↓(+) ↓(+) ↓(+)	↓(+) ↓(+) ↓(+)	↓ ↓ ↓	↓ ↓ ↓
Pietinen. *Circulation* 1996; 94	Riesgo EC	↓(+)	↓	↓(+)	↓(+)
Rimm. *JAMA* 1996; 275	Riesgo ECV	↓(+)	↓(+)	↓	↓

ECV: enfermedad cardiovascular; EAP: enfermedad arterial periférica; EC: enfermedad coronaria; IM: infarto de miocardio; ↓: reducción; ↓(+): reducción significativa; =: sin efecto significativo.

menos pronunciada, porque el riesgo de aterosclerosis está más avanzado. Este estudio se realizó en 3.588 hombres y mujeres controlados durante 8 años. Después de ajustar con otros factores de riesgo, el consumo de fibra procedente de cereales redujo el riesgo de ECV en un 21%, entre los quintiles más alto y más bajo; sin embargo, el consumo de fibra procedente de frutas y verduras no mostró efecto beneficioso. Cuando se analizaron por separado los incidentes de ECV, la mayor prevención se encontró en la aparición de ictus, siendo menor en la protección de infarto de miocardio no mortal.

8.4.3. Mecanismos de acción

El mecanismo principal por el que la fibra dietética podría mejorar la ECV es consecuencia de su capacidad de disminuir los niveles de colesterol en sangre, efecto debido especialmente a su fracción soluble. No obstante, la dieta con un alto contenido en fibra presenta también efectos beneficiosos secundarios derivados de la menor ingesta de grasa, la pérdida de peso, un mejor control de la presión arterial y una disminución de la resistencia a la insulina. Finalmente, no se deben olvidar que los alimentos ricos en fibra suelen tener componentes antioxidantes que también previenen muchos de los problemas derivados de la ECV.

8.4.3.1. Disminución del colesterol en sangre

Muchos estudios epidemiológicos demuestran que los alimentos ricos en fibra disminuyen los niveles de colesterol en sangre, especialmente la fracción LDL-colesterol. Las fibras que disminuyen los niveles de colesterol están presentes en

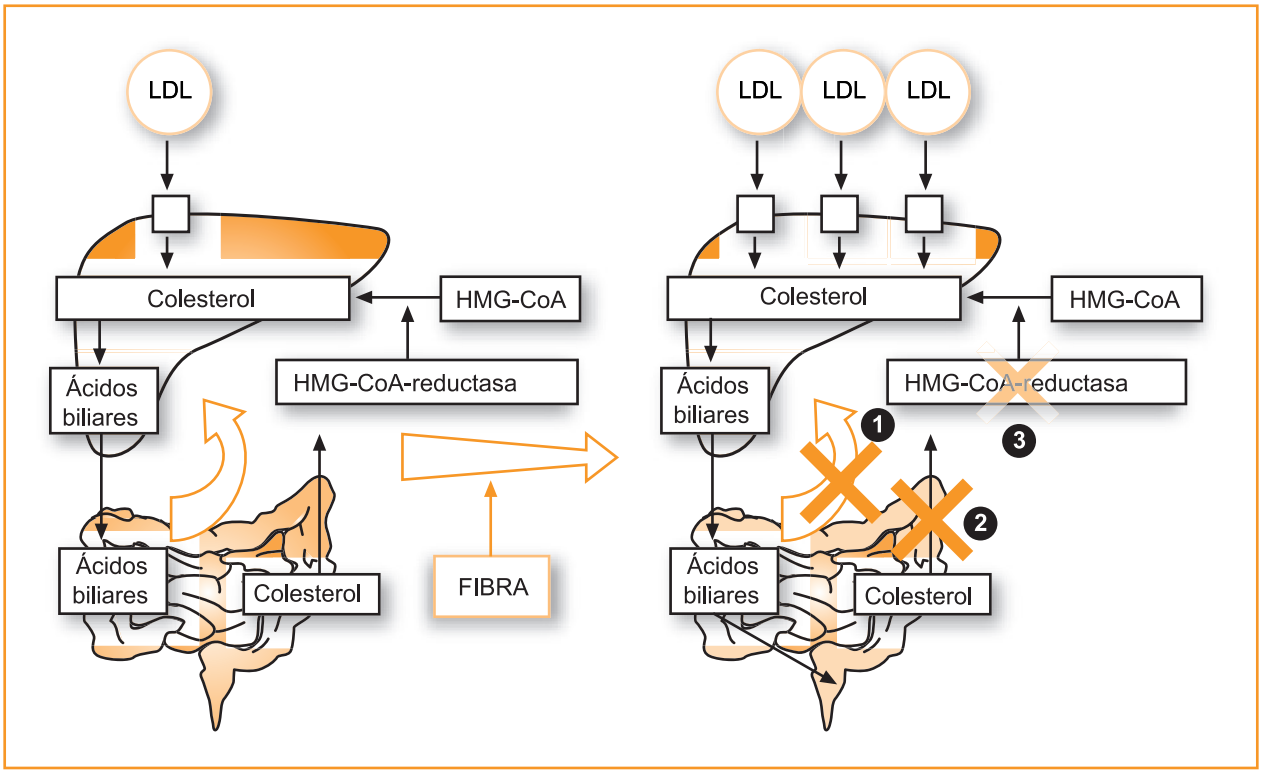


Figura 5. *Posibles mecanismos por los que la fibra dietética podría disminuir el colesterol plasmático: (1) secuestra ácidos biliares, con lo que incrementa el paso de colesterol a ácidos biliares; (2) dificulta la absorción de colesterol de los alimentos; (3) el propionato bloquea la síntesis de colesterol.*

alimentos como: manzanas, cebada, judías y otras legumbres, frutas y verduras, harina de avena, pan de avena y cáscara de arroz. También algunas fibras purificadas han demostrado eficacia como la goma guar, goma karaya, pectina, cutículas de *Psyllium*, polisacárido de soja y goma de xantana. Dos de estas fibras, el β-glucano de la avena y la cutícula de *Psyllium*, han mostrado suficientes evidencias para que sean incluidas en las guías de recomendaciones establecidas por la *National Colesterol Education Program American Heart Association*. Igualmente, la FDA ha autorizado la recomendación de que aquellos alimentos que contienen de 0,75 g a 1,7 g de fibra soluble por ración pueden reducir el riesgo de enfermedad cardiaca.

Entre los mecanismos implicados en la disminución del colesterol sanguíneo, se pueden señalar **(Figura 5)**:

• **Secuestro de los ácidos biliares.** Cuando la fibra llega al duodeno secuestra los ácidos biliares en el interior de su matriz; como consecuencia, aumenta su excreción con las heces, disminuyendo la cantidad que llega al hígado por la vía enterohepática. Los tipos de fibra capaces de atrapar los ácidos biliares son las fibras viscosas, como las pectinas o las gomas, y las fibras ricas en lignina.

El secuestro de los ácidos biliares por la fibra tiene un doble efecto en el metabolismo del colesterol. En primer lugar, para compensar su pérdida por heces, las células hepáticas se ven forzadas a formar más ácidos biliares primarios a partir del colesterol, y si este incremento de la degradación del colesterol no es compensado mediante un aumento de su síntesis, tienen que captarlo del colesterol circulante, por lo que sus niveles plasmáticos disminuyen. En segundo lugar, cuando las sales biliares son adsorbidas por la fibra dietética en el intestino delgado, se forman interacciones micelares que impiden que las grasas se puedan emulsionar y, como consecuencia, disminuirá la absorción de colesterol biliar, del procedente de los alimentos y de todos los lípidos en general.

Otro posible efecto de la fibra dietética relacionado con el metabolismo de los ácidos biliares sería el efecto preventivo de la formación de cálculos biliares, debido a la alteración del espectro de ácidos presentes en la bilis y en las heces. Así, cuando los ácidos biliares secuestrados en el intestino delgado se liberan en el ciego, la microbiota transforma estos ácidos primarios en secundarios, que son más difíciles de absorber, con lo cual la mayoría se pierde por las heces. Esta pérdida de ácidos biliares secundarios se traduce en un aumento del cociente ácidos biliares primarios/secundarios en las personas que reciben un aporte de fibra en la dieta, que da como resultado una mejor solubilización del colesterol biliar y una disminución de la capacidad litogénica de la bilis. Este hecho ha sido demostrado en diversos estudios realizados tanto en animales como en seres humanos.

• **Disminución de la absorción de colesterol.** El colesterol de la dieta es secuestrado por los geles viscosos de la fibra en el estómago y el duodeno, con lo cual será más difícil su solubilización micelar por los ácidos biliares, lo cual, sumado al hecho de existir menor cantidad de ácidos biliares libres, disminuirá el transporte de colesterol hacia la membrana absortiva. Cuando el colesterol es capaz de alcanzar la membrana del yeyuno, su absorción se verá comprometida debido al aumento de espesor de la capa superficial de agua que baña la mucosa.

Finalmente, cuando el colesterol secuestrado por la fibra alcanza el ciego, la microbiota destruirá la fibra soluble y se liberará el colesterol, pero a este nivel la capacidad de absorción es muy reducida.

• **Inhibición de la síntesis de colesterol.** La principal enzima que regula la síntesis de colesterol hepático es la β-hidroxi-β-metil-glutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa). Esta enzima cataliza la producción de mevalonato a partir de HMG-CoA, y su actividad aumenta cuando existe una baja concentración de colesterol en los hepatocitos.

La fermentación bacteriana de la fibra en el colon da como resultado un aumento en la producción de ácidos grasos de cadena corta. En diversos estudios experimentales se ha observado que el propionato, tras ser absorbido desde el colon a la circulación portal, puede actuar inhibiendo la HMG-CoA reductasa, disminuyendo la síntesis de nuevo colesterol.

8.4.3.2. Mejora en el control de la presión arterial

Se han aportado algunos estudios que demuestran una asociación inversa entre el consumo de fibra y una reducción de la presión arterial. Esta relación se ha señalado especialmente con la ingestión de avena. Sin embargo, la mayoría de los ensayos clínicos efectuados proponen que el efecto hipotensor de estas dietas se debe más a la pérdida de peso que a la actuación directa de la fibra.

En contraste, los resultados obtenidos en el estudio DASH (***D**ietary **A**pproachs to **S**top **H**ypertension*) señalan que una dieta alta en fibra y baja en grasa es muy efectiva para reducir la presión arterial. Estos autores proponen que la pérdida de peso junto con una dieta baja en grasa y alta en diversos alimentos ricos en fibra, como frutas, verduras y cereales, puede ser necesaria para reducir de forma significativa la presión arterial. Sin embargo, este estudio no presenta efecto significativo en la reducción de la presión arterial cuando el incremento en el consumo de fibra procede de una única fuente.

8.4.3.3. Disminución en la resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina es uno de los factores implicados en una serie de anormalidades relacionadas con la enfermedad cardiovascular, que se engloban bajo el término de síndrome metabólico o síndrome "X" **(Figura 6)**. Así, esta resistencia es responsable de: dislipemia, hiperinsulinemia, hipertensión e inhibición de la fibrinólisis.

Como se ha comentado anteriormente, numerosos trabajos señalan que la fibra mejora la resistencia a la insulina, lo que implicaría un mejor control de este síndrome plurimetabólico, previniendo la incidencia de ECV. En el año 2003 se llevó a cabo el Estudio de Prevención de la Aterosclerosis de Los Angeles, en el que se estableció que una dieta rica en fibra soluble, especialmente en pectinas, reduce el engrosamiento de la íntima de la arteria carótida, parámetro que indica la progresión de la aterosclerosis. Este efecto estaba relacionado con una mejora en el perfil lipídico y con una disminución en la hiperinsulinemia. Es importante tener en cuenta que la insulina, además de su papel metabólico, tiene un efecto proliferativo sobre el endotelio y el músculo liso vascular, a través de las vías de transducción de las MAP kinasas, que juega un papel muy importante en la progresión de la aterogénesis.

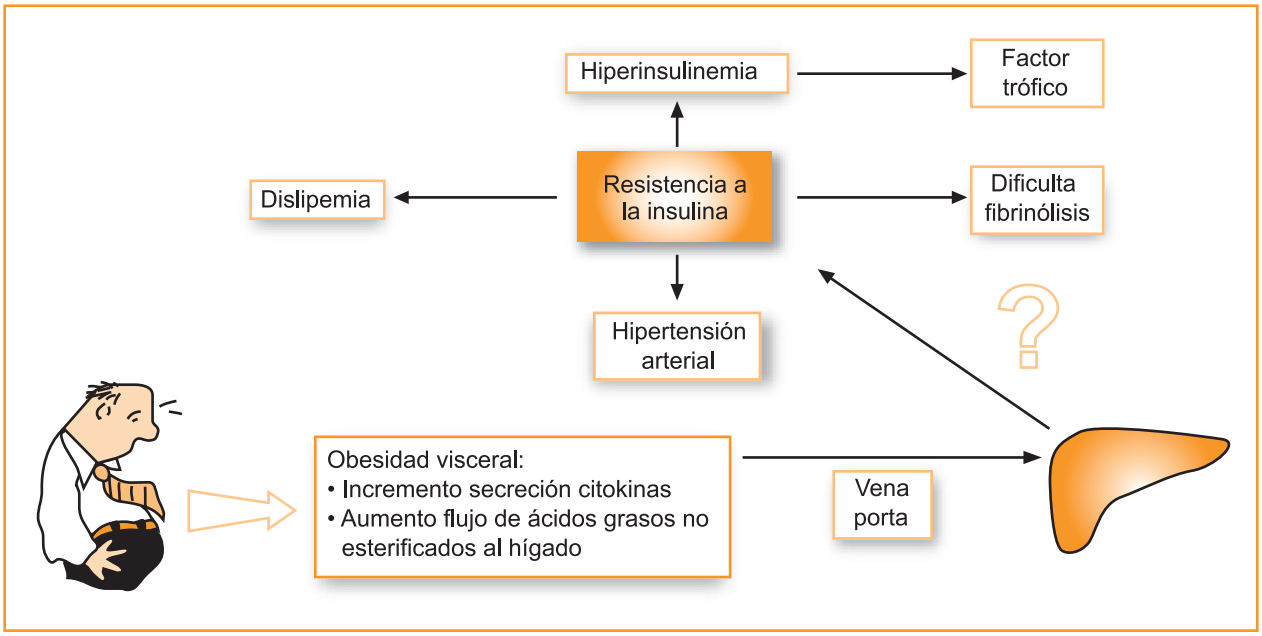


Figura 6. *Síndrome metabólico, síndrome "X" o síndrome de resistencia a la insulina.*

8.5. Fibra dietética y cáncer

La dieta juega un papel importante en la etiología y la prevención del cáncer, pero todavía hay que investigar cuáles son los factores que intervienen en este proceso y sus mecanismos de acción (*ver Capítulo 4.40*). Numerosos estudios epidemiológicos sugieren que un incremento en el consumo de fibra dietética puede disminuir el riesgo de cánceres de dependencia hormonal (mama, útero y ovarios en mujeres, y próstata en hombres) y de localización en el tracto gastrointestinal (colorrectal). Es importante destacar que es complicado establecer la relación entre fibra dietética y el desarrollo de cáncer dada la diferente composición de la fibra en función de la fuente de la que proceda, las variaciones derivadas de las distintas técnicas utilizadas en la cuantificación del contenido de fibra en la dieta, así como los posibles efectos ejercidos por otros constituyentes como son vitaminas, isoflavonoides o fitatos, que se encuentran también presentes en los alimentos ricos en fibra dietética.

8.5.1. Cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal es uno de los tipos de cáncer más frecuente en los países desarrollados, ocupando el cuarto lugar después de los de pulmón, próstata y mama; sin embargo, se trata de la segunda causa de muerte por cáncer, después del de pulmón en los varones y el de mama en las mujeres. Su aparición parece deberse al resultado de una interacción entre factores genéticos y ambientales, destacando entre los últimos la dieta y el estilo de vida. Entre los factores dietéticos posiblemente relacionados con la carcinogénesis colorrectal se incluye el mayor consumo de proteínas animales y grasas animales saturadas, junto a una dieta hipercalórica, con elevada proporción de hidratos de carbono refinados y alcohol, en detrimento del consumo de fibra dietética, frutas y verduras.

En función de lo anterior, se planteó la posibilidad de que la ingesta de fibra dietética podría ejercer un efecto beneficioso en la prevención de la aparición del cáncer colorrectal. El primero en proponer esta "hipótesis de la fibra" fue Burkitt en 1971, al observar la baja incidencia de cáncer de intestino grueso existente en la mayoría de las poblaciones africanas, cuya dieta se caracterizaba por la ingesta elevada de fibra dietética junto con una baja proporción de azúcares refinados. Desde entonces, han sido numerosos los que han intentado investigar con profundidad la asociación entre fibra dietética y la aparición de neoplasia colorrectal. Así, los primeros estudios epidemiológicos (pu-

blicados entre 1990 y 1994), y analizados mediante metaanálisis (con más de 15.000 pacientes), apuntaban a que el riesgo de aparición de cáncer colorrectal disminuía a medida que el consumo de fibra dietética era mayor, estableciéndose que la ingesta diaria de más de 27 g de fibra se asociaba con un descenso significativo de aproximadamente el 50% en el riesgo de presentar este tipo de neoplasia, en comparación con aquellos individuos cuyas dietas incorporaban menos de 11 g de fibra al día. Similares conclusiones se obtenían cuando se valoraba el riesgo de aparición de adenomas cólicos, los cuales son considerados como precursores de la aparición de cáncer colorrectal.

Sin embargo, algunos estudios prospectivos han cuestionado el papel beneficioso de la fibra dietética en la prevención de aparición de cáncer cólico. Así, en diversos estudios cohortes llevados a cabo tanto en mujeres como en hombres, se puso de manifiesto que la ingesta de fibra dietética total no se encontraba asociada con una reducción significativa en la incidencia de cáncer colorrectal o en el riesgo de aparición de adenomas. No obstante, es de resaltar que en hombres se observó una asociación inversa entre el consumo de fibra y el riesgo de aparición de adenoma cólico distal, especialmente cuando se trataba de fibra procedente de fruta, no encontrándose esta asociación con la de cereales, verduras o semillas. En consecuencia, se sugiere que el papel protector lo ejercería la fibra soluble en contraposición con la insoluble. De acuerdo con esto, sería posible que, al menos en el hombre, la fibra dietética influyera positivamente en las etapas tempranas del cáncer colorrectal pero no en las etapas avanzadas de este proceso.

Es importante tener en cuenta que algunos factores han podido llevar a conclusiones erróneas en la relación establecida entre el consumo de una dieta rica en fibra y la incidencia de cáncer colorrectal en estos estudios prospectivos. Entre éstos, se pueden resaltar: los hábitos dietéticos más o menos homogéneos de la población; la fuente de fibra y, por último, la cantidad de fibra ingerida, que no haya sido lo suficientemente elevada. Dos estudios prospectivos realizados, uno en Europa y otro en EE UU, intentan solventar estas deficiencias: ***E**uropean **P**rospective **I**nvestigation of **C**ancer and Nutrition* (EPIC) y ***P**rostate, **L**ung, **C**olorectal, and **O**varian Cancer Screening Trial* (PLCO).

En el estudio europeo se valoró la incidencia de cáncer colorrectal en poblaciones con hábitos dietéticos muy variados, tanto en relación con el consumo total de fibra como en el tipo ingerido, procedentes de siete países europeos (Italia, España, Reino Unido, Alemania, Dinamarca, Holanda y Suecia). Las conclusiones alcanzadas en este estudio indicaban que cuanto mayor es el consumo de fibra total (hasta 32 g/día de media) menor es el riesgo de desarrollar cáncer de colon, especialmente el localizado en el lado izquierdo del intestino grueso, careciendo de efecto beneficioso frente al cáncer de localización rectal. Este efecto es ejercido por la fibra independientemente del tipo de alimento de donde proceda, aunque establece la existencia de una tendencia, sin diferencias significativas, con el mayor consumo de fibra procedente de la fruta, cereales y verduras, no así el de legumbres. El estudio norteamericano, incluido en un programa de detección precoz de cáncer colorrectal llevado a cabo en diferentes regiones de los EE UU, en más de 34.000 individuos, ratifican este efecto preventivo de la fibra, de forma que los participantes del estudio con mayor consumo (36,4 g/día de media) presentaban una reducción del 27% en el riesgo de presentar adenoma en comparación con aquellos incluidos en el grupo con el menor consumo (12,6 g de media). Esta asociación inversa fue más patente con la fibra procedente de frutas o de cereales, pero no con la procedente de verduras o legumbres.

En conclusión, y a pesar de los datos a veces contradictorios obtenidos en estos estudios, existe un consenso entre los especialistas del tema en que existe suficiente evidencia como para sugerir que la incorporación en la dieta de cantidades de fibra de 30 a 35 g diarios, especialmente procedente de frutas y cereales, reduce el riesgo de la aparición de cáncer colorrectal.

8.5.2. Cáncer de mama

Numerosos estudios han establecido que cuanto mayor sea la exposición en el tiempo a hormonas esteroides endógenas ováricas (estradiol) por parte de la mujer, mayor es el riesgo de presentar cáncer de mama. Por lo tanto, cualquier medida que reduzca estos niveles hormonales puede ser beneficiosa en la prevención de este tipo de cáncer. En este sentido, se ha postulado que una dieta

rica en fibra y baja en grasa se asocia con una reducción en los niveles de hormonas sexuales femeninas, justificando el papel preventivo que la fibra dietética podría ejercer en estos tumores. No obstante, y de forma general, los contenidos de grasa y fibra en la dieta se encuentran inversamente relacionados, por lo que es difícil separar los efectos debidos a cada uno de estos nutrientes, dado el papel que también se le ha atribuido al consumo de grasa en la aparición del cáncer de mama.

No obstante, en un estudio realizado en Finlandia, en donde, el consumo de fibra dietética y de grasa es elevado, se demostró que la incidencia de muerte por cáncer de mama es considerablemente menor que en otros países occidentales, como los Estados Unidos, en donde, si bien el consumo de grasa también es elevado, no lo es el consumo de fibra dietética. De hecho, la mayoría de los estudios proponen que el incremento en el consumo de fibra, preferentemente procedente de verduras, cereales y legumbres, se asocia con una disminución en el riesgo de cáncer de mama e incluso con una reducción en la incidencia de alteraciones epiteliales proliferativas en las mamas de carácter benigno.

8.5.3. Mecanismos de acción

Se han propuesto varios mecanismos potenciales por los que la fibra dietética podría ejercer su efecto protector en el cáncer:

a) La fibra aumenta el volumen de los contenidos intestinales y disminuye el tiempo de tránsito intestinal. De esta forma, se diluyen los carcinógenos potenciales que pueden estar presentes en el contenido del colon, al mismo tiempo que reduce la posibilidad de contacto con células de la mucosa intestinal.

b) La fibra tiene capacidad de fijar carcinógenos potenciales, como los ácidos biliares. Los ácidos o las sales biliares fijados no se degradan en el colon, evitando su conversión por las enzimas bacterianas en ácidos biliares secundarios, algunos de los cuales son considerados como procarcinógenos. A este efecto hay que añadir la capacidad de la fibra de disminuir el pH fecal, lo que inhibe la actividad de enzimas bacterianas involucradas en el metabolismo de los ácidos biliares.

c) La generación de ácidos grasos de cadena corta en el lumen intestinal, en especial de butirato, puede constituir un factor de gran importancia en la prevención de la carcinogénesis colorrectal. De hecho, estudios experimentales realizados *in vitro* han demostrado la capacidad del butirato de inhibir la proliferación de células tumorales cólicas, inducir su diferenciación y promover la apoptosis. Entre los mecanismos propuestos para ejercer estas acciones por parte del butirato en las células tumorales se incluye:

• La estimulación del proceso de hiperacetilación de histonas, que promueve la expresión del gen que genera el p21, potente inhibidor del ciclo celular. El p21 inhibe el oncogén *bcl-2*, que es uno de los responsables del bloqueo del proceso apoptótico celular. Por tanto, el butirato, al promover la expresión del *p21*, favorece la apoptosis celular.

• Recientemente se ha propuesto que el butirato es capaz de inhibir la expresión del ***D****ecay-****A****ccelerating* ***F****actor* (DAF) en distintas líneas celulares procedentes de cáncer de colon. Este factor se expresa en la superficie de las células cancerosas cólicas y constituye un mecanismo de defensa frente a la actuación de la respuesta inmune humoral a través de la vía del complemento.

Además, el efecto que la fibra presenta sobre la producción de insulina también se ha sugerido que puede contribuir en su efecto preventivo del riesgo de cáncer colorrectal, dado que la hiperinsulinemia se considera como un importante factor de riesgo en la generación de tumores, ya que la insulina es un factor de crecimiento importante para células como las epiteliales cólicas y se comporta como un mitógeno para las células de carcinoma cólico.

9. Resumen

- El concepto más reciente propuesto para la fibra es: "la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con completa o parcial fermentación en el intestino grueso. La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina, y sustancias asociadas de la planta. Las fibras dietéticas promueven efectos beneficiosos fisiológicos como el laxante, y/o atenúa los niveles del colesterol en sangre y/o atenúa la glucosa en sangre".

- Por tanto, la fibra dietética no está formada por sustancias con una estructura concreta que permita diferenciar sus componentes, sino que distintas propiedades permiten encuadrar una sustancia bajo el concepto de fibra dietética. Entre éstas, se pueden resaltar:
  • Son sustancias de origen vegetal.
  • Suelen ser moléculas muy complejas, en su mayor parte hidratos de carbono, aunque algunos componentes de la fibra, como la lignina, son de otra naturaleza.
  • La fibra es inatacable por las enzimas digestivas humanas pero puede ser fermentada por las bacterias presentes en el intestino grueso.

- Los componentes de la fibra dietética poseen estructuras muy diferentes y, por tanto, propiedades distintas. Basándose en su comportamiento en contacto con el agua se clasifican en fibras solubles e insolubles; y en función de su fermentabilidad se dividen en muy fermentables, parcialmente fermentables y no fermentables.

- La importancia que en los últimos años está adquiriendo la fibra en nutrición se debe a que diversos estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto que su consumo previene la aparición de determinadas patologías propias de los países desarrollados, que se engloban bajo el término de "enfermedades de la opulencia". Así, el incremento en la ingesta de fibra dietética ayuda a prevenir la diabetes, las enfermedades cardiovasculares, la obesidad y enfermedades del tracto digestivo como el estreñimiento crónico o la diverticulosis. No obstante, hay que tener en cuenta que no todas las fibras tienen los mismos efectos beneficiosos para la salud. Así, la fibra soluble es muy útil para la prevención de la obesidad, la diabetes o las enfermedades cardiovasculares; mientras que el consumo de fibra insoluble parece mejor para controlar las enfermedades del tracto digestivo.

- Estos hechos han llevado a recomendar que se deben realizar aportes de fibra en torno a 25-30 g/día, y que ésta debe guardar una proporción de un 75% de insoluble y 25% de soluble. Igualmente se recomienda que, siempre que sea posible, este aporte se haga consumiendo alimentos ricos en fibra y no tomando suplementos de la misma. Esto se debe a que:
  1. En los alimentos ricos en fibra existen otras sustancias como vitaminas, minerales o antioxidantes, que pueden colaborar en la prevención de estas enfermedades.
  2. Al ingerir estos nutrientes, se realiza un cambio en la dieta, evitando el consumo de otros alimentos nocivos para la salud.

10. Bibliografía

Andoh A, Tsujikawa T, Fujiyama Y. Role of dietary fiber and short-chain fatty acids in the colon. Curr Pharm Des 2003; 9: 347-58.
Se trata de una rigurosa revisión que describe las actividades biológicas de la fibra y de los AGCC, justificando sus acciones en el tratamiento y prevención del cáncer de colon y de la enfermedad inflamatoria intestinal.

Bruneton J. Farmacognosia, Fitoquímica, Plantas Medicinales, 2ª ed. Acribia. Zaragoza, 2001.
Es uno de los libros más completos de Fitoquímica y Farmacognosia. En él se recogen las estructuras químicas de los principales componentes de la fibra.

Chandalia M, Garg A, Lutjohann D, Von Bergmann K, Grundy SM, Brinkley LJ. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. N Engl J Med 2002; 342: 1392-8.
Este artículo recoge uno de los pocos ensayos clínicos que compara los efectos sobre el perfil glucídico de una dieta enriquecida en fibra con los de la dieta propuesta por la Sociedad Americana de Diabetes para los diabéticos tipo 2.

Davy B, Melby C. The effect of fiber-rich carbohydrates on features of Syndrome X. J Am Diet Assoc 2003; 103: 86-96.
Es una excelente revisión que aborda los efectos beneficiosos de los alimentos ricos en fibra en el síndrome "X".

De Vries J. On defining dietary fibre. Proc Nutr Soc 2003; 62: 37-43.
Esta publicación hace una revisión sobre la evolución en el concepto de fibra, proponiendo el concepto posiblemente más amplio y actual de la fibra dietética.

Kim Y-I. AGA technical review: impact of dietary fiber on colon cancer occurrence. Gastroenterolgy 2000; 118: 1235-57.
Esta revisión fue preparada para la Asociación Americana de Gastroenterología, en la que se recogen y se analizan con detalle la mayoría de los datos epidemiológicos relativos a la relación entre el consumo de fibra dietética y riesgo de cáncer colorrectal publicados hasta el año de su publicación.

Mataix J, Gassull MA. Fibra alimentaria. En: Mataix J (ed.). Nutrición y alimentación humana. Ergon. Madrid, 2002: 119-37.
Estos autores presentan un excelente capítulo sobre la fibra alimentaria, donde describen fundamentalmente los componentes, fuentes y propiedades fisiológicas de la fibra.

Marlet J, McBurney M, Slavin J. Position of the American Dietetic Association: Health implications of dietary fiber. J Am Diet Assoc 2002; 102: 993-1000.
Es una revisión amplia y detallada realizada por la Asociación Dietética Americana sobre los efectos beneficiosos de la fibra.

Mozaffarian D, Kumanyika SK, Lemaitre RN, Olson JL, Burke GL, Siscovick DS. Cereal, fruit and vegetable fiber intake and the risk of cardiovascular disease in elderly individuals. JAMA 2003; 289: 1659-66.
Es un estudio cohorte muy reciente realizado sobre pacientes sin enfermedad cardiovascular con más de 65 años. Compara el efecto beneficioso del incremento en diferentes tipos de fibra en la aparición de ictus, infarto de miocardio no mortal y enfermedad cardiaca mortal. Concluyen que el menor riesgo de ECV se asocia con el consumo de fibra cereal.

Murtaugh M, Jacobs D, Jacob B, Steffen L, Marquart L. Epidemiological support for the protection of whole grains against diabetes. Proc Nutr Soc 2003; 62: 143-9.
Este trabajo recoge los trabajos epidemiológicos más importantes que relacionan el consumo de alimentos ricos en fibra y la diabetes tipo 2. Llega a la conclusión de que es la fibra procedente de cereales la que presenta un mayor efecto protector de la diabetes.

Redondo L. La fibra terapéutica, 2ª ed. Glosa. Barcelona, 2002.
Es uno de los pocos libros dedicados íntegramente al estudio de la fibra. Hace una revisión muy amplia del concepto de fibra y de sus componentes. Igualmente aporta muchos estudios clínicos, con las posibles aplicaciones de la fibra, profundizando especialmente en la fibra procedente de la semilla de *Plantago ovata.*

Wu H, Dwyer K, Fan Z, Shircore A, Fan J, Dwyer J. Dietary fiber and progression of atherosclerosis: the Los Angeles Atherosclerosis Study. Am J Clin Nutr 2003; 78: 1085-91.
Un estudio muy interesante que demuestra que el consumo de fibras solubles, especialmente en pectinas, disminuye el engrosamiento de la íntima de la carótida, efecto relacionado con una mejora en la resistencia a la insulina.

Zarzuelo A. Fibra. En: Guías alimentarias para la Población Española. IM&C, S.A. Madrid, 2001: 277-87.
Revisión esquemática y rigurosa de los aspectos más importantes relacionados con la fibra dietética, incluidos el concepto, las características, acciones biológicas y recomendaciones en cuanto a su consumo.

11. Enlaces web

- www.nutricion.org/
- www.seenweb.org/
- www.senpe.com/
- www.institutodelafibra.com.mx/
- www.fibra-salud.com/

1.11. Metabolismo de las lipoproteínas

Antonio Sánchez Pozo ■ María de los Ángeles Ortega de la Torre

Capítulo 1.11.

Metabolismo de las lipoproteínas

1. Introducción
2. Transportadores de lípidos en el plasma
3. Características estructurales de las lipoproteínas
4. Características funcionales de las lipoproteínas
5. Síntesis de quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad
6. Alteraciones en los procesos de secreción de las lipoproteínas
7. Alteraciones en los procesos de síntesis de las lipoproteínas
8. Hidrólisis de los triglicéridos por la lipoproteína lipasa
9. Cofactores de la lipoproteína lipasa
10. Transformaciones de las lipoproteínas tras la lipólisis
11. Captación de los remanentes de lipoproteínas
12. Captación de lipoproteínas de baja densidad
13. Características del receptor B/E
14. Captación de lipoproteínas modificadas
15. Síntesis de lipoproteínas de alta densidad
16. Esterificación del colesterol en las lipoproteínas de alta densidad
17. Transferencia de lípidos en las lipoproteínas de alta densidad
18. Metabolismo de las lipoproteínas en el neonato
19. Efectos de la dieta sobre las lipoproteínas
20. Lipoproteínas, genes y nutrientes

21. Resumen

22. Bibliografía

23. Enlaces web

Objetivos

- Conocer el papel de las lipoproteínas en el transporte de lípidos plasmáticos.
- Comprender la estructura y composición de las lipoproteínas, así como las modificaciones que sufren durante el metabolismo.
- Conocer los procesos de síntesis y secreción de las lipoproteínas, así como las principales alteraciones de los mismos.
- Reconocer el papel de las enzimas lipoproteínas lipasas, las características y las alteraciones relacionadas.
- Comprender el papel de la enzima lecitina-colesterol-acil transferasa y los procesos de intercambio de lípidos, especialmente los de captación de colesterol de los tejidos.
- Conocer los procesos de captación de lípidos y lipoproteínas por los tejidos, su regulación y alteraciones relacionadas.
- Entender el proceso de depósito de colesterol en los vasos sanguíneos.
- Comprender el significado de las determinaciones analíticas más frecuentes.
- Adquirir nociones de las características del metabolismo de las lipoproteínas en el periodo perinatal.
- Conocer el efecto de la nutrición sobre las concentraciones plasmáticas de lipoproteínas.

1. Introducción

Con el presente Capítulo se pretende que el lector conozca los hechos más relevantes del metabolismo de los lípidos en la circulación. El estudio de la absorción y metabolismo intestinal se trata en el Capítulo 1.8. Asimismo, el metabolismo tisular de los lípidos se trata en el Capítulo 1.12.

Se abordan los complejos denominados lipoproteínas, ya que constituyen el sistema de transporte fundamental. Mediante las lipoproteínas se transportan los principales lípidos: ácidos grasos, colesterol y vitaminas liposolubles. Como se verá más adelante, la albúmina también puede actuar como transportador de lípidos. En ningún caso se encuentran lípidos circulantes libres, dada su naturaleza insoluble en el agua.

El conocimiento del metabolismo de las lipoproteínas es de gran interés en Nutrición y sobre todo en Nutrición Clínica. Las alteraciones del metabolismo de las lipoproteínas son de interés para entender el proceso de la aterosclerosis. Aunque existen alteraciones primarias y secundarias a otras enfermedades como la diabetes, muchas son inducidas por la dieta. Por otra parte, el conocimiento de las particularidades de este metabolismo es necesario para afrontar posibles problemas derivados de la nutrición parenteral. Finalmente, las particularidades durante la fase perinatal son de gran interés para el diseño de fórmulas para la nutrición infantil. Todos estos aspectos serán tratados en este Capítulo.

El metabolismo de las lipoproteínas resulta siempre un tema complejo por las múltiples interrelaciones entre los elementos que lo componen. En el presente caso se ha apostado por describir los procesos, sin abundar en los detalles, que, aunque interesantes, suelen dificultar la comprensión y no son indispensables para comprender el aspecto funcional, que es lo que se quiere primar.

Por otra parte, se ha adoptado la línea de indicar, conforme se describen los procesos, algunas de las alteraciones más conocidas y que pueden ayudar a la hora de enfrentarse a la nutrición de determinados pacientes. En todo caso, resultan útiles para resaltar los puntos críticos del proceso.

2. Transportadores de lípidos en el plasma

No hay que olvidar que también existe transporte de ácidos grasos unidos a la albúmina sérica. El sistema de las lipoproteínas permite transportar mayores cantidades de ácidos grasos que la albúmina. Los ácidos grasos se empaquetan en forma de triglicéridos y como lípidos no polares ocupan el interior de las lipoproteínas en cantidades muy significativas. Por el contrario, el transporte de ácidos grasos por la albúmina sólo permite el transporte de los ácidos grasos que se adhieran a la misma externamente, siendo siempre su cantidad limitada.

La cantidad de lípidos transportada es considerable. Así, una lipoproteína pequeña como la LDL suele transportar unas 1.500 moléculas de colesterol.

El transporte de lípidos como lipoproteínas permite el aporte selectivo de los mismos a los tejidos, mediante la interacción de la parte proteica de la lipoproteína con receptores y enzimas tejido específicas.

De esta forma se dirigen los ácidos grasos y el colesterol hacia determinados tejidos, mientras que los ácidos grasos transportados por la albúmina no se dirigen a ningún tejido en concreto.

3. Características estructurales de las lipoproteínas

Las lipoproteínas son partículas que contienen lípidos no polares en el interior de una cubierta similar a la de las membranas, esto es, formada por proteínas y lípidos anfipáticos (anfipático: con una parte polar y otra apolar). Dentro de las lipoproteínas se encuentran triglicéridos y colesterol esterificado. En la superficie se encuentran fosfolípidos, colesterol no esterificado y proteínas **(Figura 1)**. No se debe olvidar que todas las sustancias lipídicas, como son las vitaminas liposolubles, se encuentran en las lipoproteínas.

Las proteínas constituyentes de las lipoproteínas son de dos tipos: las que participan en las interacciones con receptores y enzimas, a las que se denomina apolipoproteínas, apoproteínas o sencillamente apos, y las que ejercen alguna función, como la enzima lecitina colesterol acil transferasa o las proteínas intercambiadoras de lípidos. Son los componentes decisivos en el metabolismo como se verá más adelante.

La cantidad relativa de lípidos y proteínas determina la densidad de la partícula. Las lipoproteínas de alta densidad son las que contienen más cantidad de proteína y las de baja densidad más cantidad de lípidos. En todo caso, la densidad de las lipoproteínas oscila entre 1,006 y 1,210 g/ml. La terminología más usada para identificar las lipoproteínas está en función de su densidad. Así, VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad (***V**ery-**L**ow-**D**ensity **L**ipoproteins*); IDL, lipoproteínas de densidad intermedia (***I**ntermediate-**D**ensity **L**ipoproteins*); LDL, lipoproteínas de baja densidad (***L**ow-**D**ensity **L**ipoproteins*); HDL, lipoproteínas de alta densidad (***H**igh-**D**ensity **L**ipoproteins*).

La forma que suele usarse para representar a una lipoproteína es la de una esfera, aunque también pueden presentarse como un disco

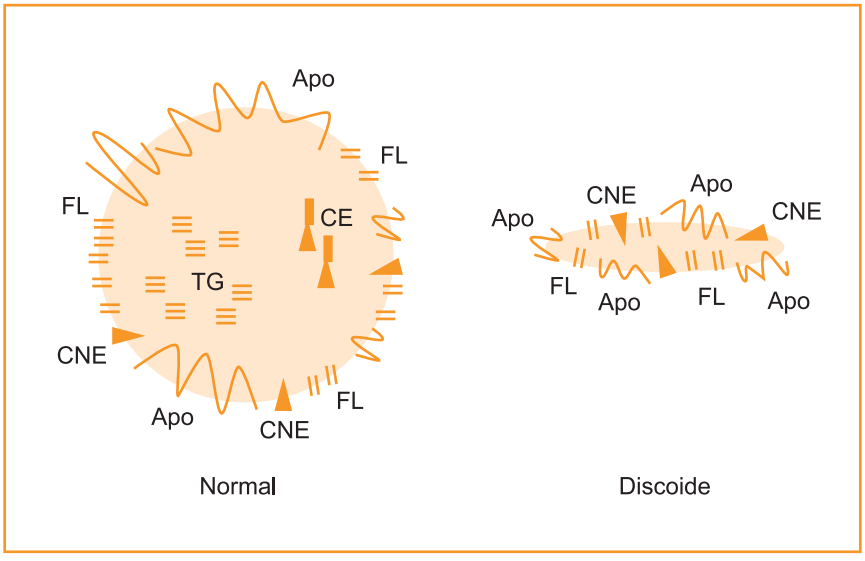


Figura 1. *Representación esquemática de la estructura de las lipoproteínas. Se han indicado algunos de los componentes. Apo: apoproteína; FL: fosfolípido; CNE: colesterol no esterificado; CE: colesterol esterificado; TG: triglicérido.*

Tabla 1. PRINCIPALES LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD

Lipoproteína	Proteínas	Función
QM	B-48	Transporte de triglicéridos
VLDL	B-100, E, C-II	Transporte de triglicéridos
IDL	B-100, E	Transporte de triglicéridos
LDL	B-100	Transporte de colesterol
Lp (a)	B-100, (a)	Transporte de colesterol

*QM: quilomicrones; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad (***V***ery-***L***ow-***D***ensity ***L***ipoproteins); IDL: lipoproteínas de densidad intermedia (***I***ntermediate-***D***ensity ***L***ipoproteins); LDL: lipoproteínas de baja densidad (***L***ow-***D***ensity ***L***ipoproteins); Lp: lipoproteína.*

Tabla 2. PRINCIPALES LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD

Lipoproteína	Proteínas	Función
HDL-2	A-I, LCAT, LPT	Transferencia de colesterol
HDL-3	A-I, LCAT, LPT	Esterificación de colesterol
HDL-C	A-I	Transporte de colesterol

*HDL: lipoproteínas de alta densidad (***H***igh-***D***ensity ***L***ipoproteins); LCAT: lecitina-colesterol-acil transferasa; LPT: proteínas transferidoras de lípidos.*

(Figura 1). El tamaño y la forma dependen del volumen de lípidos que contenga en su interior. Así, las formas esféricas suelen contener cantidades apreciables de triglicéridos y/o colesterol esterificado, mientras que las discoides contienen poca o ninguna cantidad de esos lípidos. Las formas esféricas y discoidales aparecen en el metabolismo de las lipoproteínas de alta densidad, mientras que en el metabolismo de las lipoproteínas de baja densidad todas son formas esféricas.

Es frecuente representar las lipoproteínas como esferas en donde se pueden ver proteínas y otros lípidos en la superficie **(Figura 1)**. Esto no deja de ser un error, ya que las proteínas suelen cubrir la mayor parte de la superficie.

No olvidar que las lipoproteínas, como las micelas, son meras asociaciones en donde no existen enlaces covalentes entre sus componentes, lo que permite el intercambio de los mismos. De hecho, se intercambian todos los componentes lipídicos y los proteicos a excepción de la Apo B, por su gran tamaño.

4. Características funcionales de las lipoproteínas

Las lipoproteínas de baja densidad incluyen todo un conjunto de partículas que contienen Apo B. La baja densidad indica que son muy ricas en lípidos. Se trata de un sistema que funciona dirigiendo lípidos desde los tejidos en los que se sintetizan hasta los tejidos consumidores; en otras palabras, es el sistema principal. Las principales lipoproteínas se indican en la **Tabla 1**. La lipoproteína (a) está presente de forma normal en el plasma, aunque normalmente no se incluye en los esquemas metabólicos.

Las lipoproteínas de alta densidad incluyen todo el conjunto de partículas que contienen Apo A, entre otras **(Tabla 2)**. Su alta densidad indica que son muy ricas en proteínas. Se trata de un sistema complementario para el metabolismo de las lipoproteínas de baja densidad, pero que cumple otras funciones, entre ellas es capaz de recoger colesterol de los tejidos.

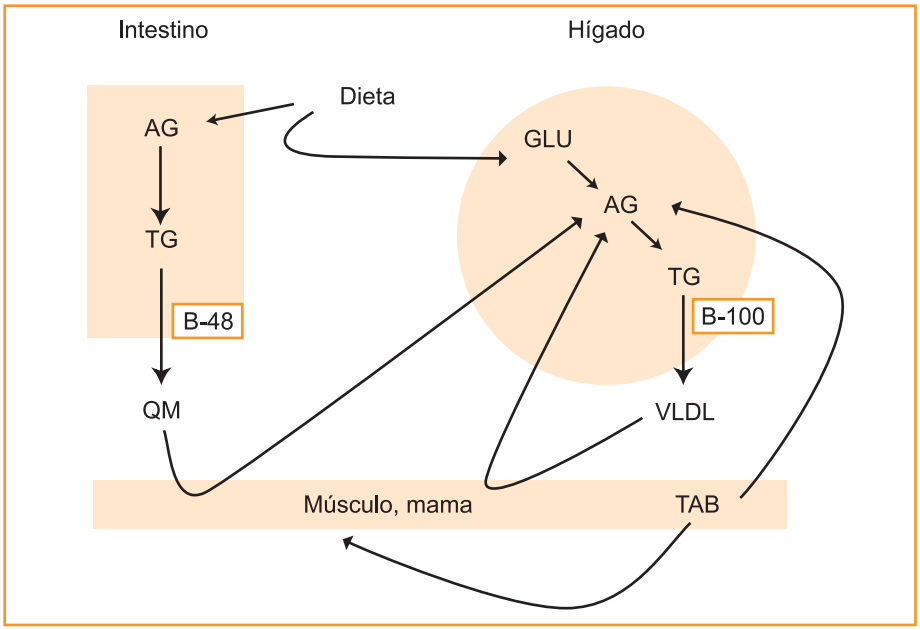


Figura 2. *Origen y destino de la grasa de la dieta. Se han incluido los tejidos que utilizan la grasa con independencia del destino final de la misma. AG: ácido graso; TG: triglicérido; B-48 y B-100: apolipoproteínas; GLU: glucosa; TAB: tejido adiposo blanco; QM: quilomicrón; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad.*

Otras apoproteínas presentes en las HDL son las Apo C, de las que se han descrito varias (C-I, C-II, C-III), siendo la Apo C-II la más interesante. También se han descrito las Apo D, J, H y K-45. La función de estas proteínas es mal conocida.

Además de la enzima LCAT, las HDL contienen otras como la paraoxonasa, la acetil hidrolasa del factor activador plaquetario y otras.

5. Síntesis de quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad

La secreción de lipoproteínas tiene lugar fundamentalmente en el intestino y en el hígado. En el primer caso, las lipoproteínas que se forman son denominadas quilomicrones y transportan la grasa de la dieta. En el segundo caso, las lipoproteínas que se forman son las VLDL y transportan la grasa sintetizada en el hígado.

La síntesis de grasa en el hígado tiene lugar mediante la utilización de los ácidos grasos procedentes del tejido adiposo blanco o mediante la síntesis *de novo* (lipogénesis) a partir de los glúcidos en exceso. También hay que contar con la grasa transportada por los quilomicrones y no utilizada por los tejidos periféricos, que acaba retornando al hígado **(Figura 2)**.

La secreción en el caso del hígado es directa a la sangre, pero, en el caso del intestino, tiene lugar a la linfa y posteriormente a la sangre al verterse a la misma en el canal torácico. Alteraciones en el transporte linfático, como la linfangiectasia, impiden que la grasa de la dieta alcance la circulación y pueden explicar algunos casos de hipolipemia.

El proceso de secreción de lipoproteínas ocurre como cualquier proceso de secreción proteica. En este caso la proteína a secretar, la Apo B, una proteína muy grande y muy hidrofóbica, acoge los lípidos presentes en el entorno del retículo endoplásmico **(Figura 3)**. Los lípidos como el colesterol o los fosfolípidos siempre se encuentran asociados a esas membranas. Los triglicéridos alcanzan el retículo gracias a proteínas transferidoras de lípidos. La proteína viaja al Golgi, donde sigue acogiendo lípidos y donde sufre procesos de glicosilación, fosforilación, acilación. Cuando la cantidad de triglicéridos es adecuada, la proteína se desprende de las membranas quedando en el lumen de vesículas de secreción. Finalmente es secretada mediante exocitosis de las vesículas.

El tiempo de paso de la Apo B por el sistema secretor es bastante lento y ello permite su regulación por numerosos factores hormonales. La insulina y los glucocorticoides activan la secreción, mientras que el glucagón, las catecolaminas y las hormonas tiroideas la inhiben. Los efectos de la dieta se tratarán más adelante.

Los procesos de secreción son similares en el intestino y en el hígado pero la apoproteína es diferente. En el hígado se trata de Apo B-100,

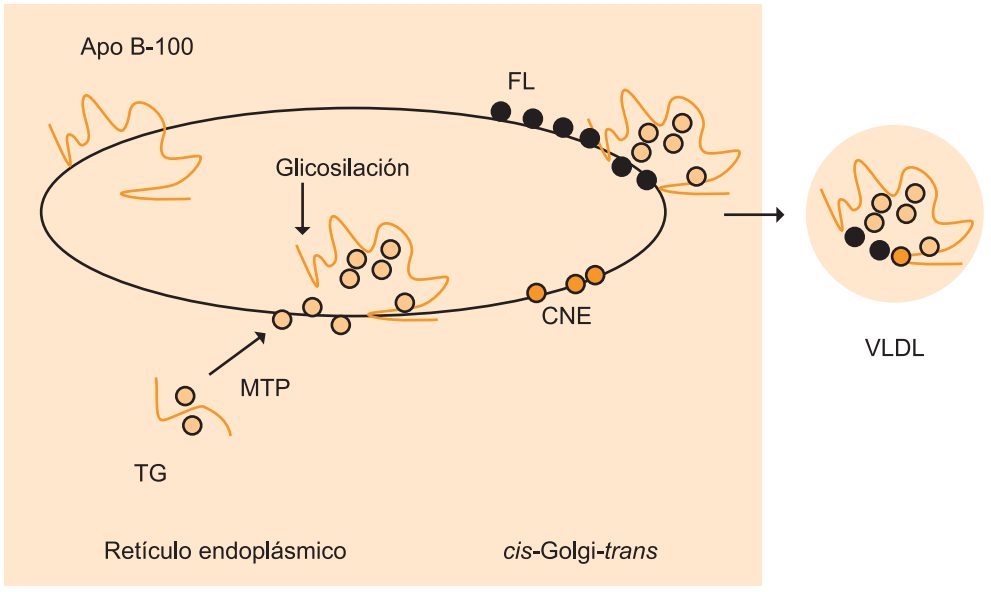


Figura 3. *Ensamblaje y secreción de lipoproteínas de baja densidad. Se indica que el proceso tiene lugar en la parte interna de las membranas del retículo endoplásmico y sistema de Golgi. Apo: apoproteína; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad; FL: fosfolípido; CNE: colesterol no esterificado; TG: triglicérido; MTP: proteína transferidora de triglicéridos de los microsomas.*

mientras que en el intestino, de la Apo B-48. Esta apoproteína es una forma truncada (se produce por la aparición de un codón de terminación en la posición 2153) de la Apo B-100, siendo ambas codificadas por el mismo gen. La Apo B-48 es algo menor (2.152 aminoácidos) que la mitad de la Apo B-100 (4.563 aminoácidos). Esa pequeña diferencia es de gran trascendencia, ya que los aminoácidos que le faltan son necesarios para establecer la interacción con los receptores. De hecho, la Apo B-48 no interacciona con ningún receptor.

Otro aspecto diferencial es la presencia de la apoproteína E. Esta proteína se sintetiza exclusivamente en el hígado. No obstante, al ser una proteína pequeña, puede encontrarse en los quilomicrones a los que se une una vez que éstos interaccionan con las VLDL en el plasma.

6. Alteraciones en los procesos de secreción de las lipoproteínas

La falta de secreción de Apo B origina un conjunto de trastornos denominado abetalipoproteinemia **(Tabla 3)**. En ellos, los niveles de triglicéridos son muy bajos en el plasma al no existir lipoproteínas de baja densidad. La forma clásica se debe al defecto en la proteína transferidora de lípidos de los microsomas y afecta tanto al hígado como al intestino, no observándose ni quilomicrones ni VLDL en el plasma. Existe también la denominada abetalipoproteinemia con retención selectiva de quilomicrones, que afecta exclusivamente al proceso de glicosilación intestinal, y en donde no hay quilomicrones, pero sí VLDL en el plasma.

En ocasiones se observa otra forma truncada de la Apo B, la Apo B-49,6, que tampoco interacciona con receptores y que origina una alteración denominada abetalipoproteinemia normotriglicerídemica. La denominación puede inducir a confusión. De hecho la normotrigliceridemia indica que se secreta Apo B, pero ésta no es detectable con los anticuerpos con los que se determina la apolipoproteína B-100 y por ello se habla de abetalipoproteinemia.

La falta de transporte de lípidos conlleva la falta de transporte de vitaminas liposolubles. La escasez de vitaminas como la E, puede originar trastornos neurológicos importantes, habién-

Tabla 3. DIFERENTES FORMAS DE ABETALIPOPROTEINEMIA

Trastorno	Etiología	Modificaciones plasmáticas
Abetalipoproteinemia	Déficit de MTP	Hipotrigliceridemia muy marcada Escasos QM y VLDL
Abetalipoproteinemia con retención selectiva de QM	Déficit de glicosilación	Hipotrigliceridemia posprandial Escasos QM
Abetalipoproteinemianormotriglicerid émica	Apo B-49,6	Ninguna

*QM: quilomicrones; VDLD: lipoproteínas de muy baja densidad (**V**ery-**L**ow-**D**ensity **L**ipoproteins); MTP: proteína transferidora de triglicéridos de los microsomas.*

dose descrito situaciones de ataxia motora. Igualmente, la escasa síntesis de QM hace que la grasa se quede en el intestino y se produzca esteatorrea.

La falta de lipoproteínas puede originar anemia hemolítica. Cuando no existen QM ni VLDL, la actividad de la enzima LCAT presente en el sistema HDL actúa sobre los eritrocitos. El resultado de la actuación de esta enzima (*ver más adelante*) es la retirada de colesterol de las membranas de los eritrocitos, lo que los deforma notablemente (acantocitosis), favoreciendo su destrucción.

7. Alteraciones en los procesos de síntesis de las lipoproteínas

El aumento de lípidos hepáticos origina hiperlipemia. Los lípidos no suelen acumularse en el hígado, ya que suele haber siempre suficiente cantidad de apoproteínas disponibles para la secreción. La acumulación (esteatosis) resulta un estorbo al funcionamiento hepático y se produce cuando existe un deterioro notable del hígado, como ocurre, por ejemplo, en la cirrosis.

El aumento de lípidos hepáticos tiene lugar en circunstancias muy variadas. Entre ellas, cabe destacar el consumo de azúcares y el de alcohol, y la diabetes **(Tabla 4)**.

Tanto con el consumo excesivo de azúcares como en la diabetes, el desencadenante de la hiperlipemia es la abundancia de glucosa, que favorece la formación de ácidos grasos, así como de glicerol. En el caso de la diabetes, además, se suma la avalancha de ácidos grasos procedentes del tejido adiposo que llegan al hígado.

En el alcoholismo la hiperlipemia responde a varias alteraciones hepáticas. El aumento de NADH que origina el consumo de alcohol produce un aumento de glicerol fosfato por desplazamiento de intermediarios de la glucólisis. Por otra parte, la alteración de las mitocondrias bloquea la oxidación de los ácidos grasos.

El aumento de la síntesis de apoproteínas puede originar hiperlipemia. Se han descrito elevaciones en casos de sobre expresión de Apo B (hiperapobetalipoproteinemia) y en el síndrome nefrótico. En el síndrome nefrótico la pérdida de proteínas por la orina ejerce un estímulo importantísimo de la síntesis hepática de proteínas, lo que conduce al aumento de las apoproteínas. La inducción afecta a muchas proteínas y su objetivo es compensar las pérdidas y mantener de esa forma una presión oncótica suficiente para que no disminuya la volemia.

La alteración de la apoproteína E origina una hiperlipemia conocida como disbetalipoproteinemia. El origen de la elevación de los triglicéridos está en un defecto en la interacción con el receptor. Su estudio se realizará más adelante conjuntamente con otras alteraciones relacionadas con los receptores.

Tabla 4. HIPERLIPEMIAS DE ORIGEN EN LA SÍNTESIS DE LIPOPROTEÍNAS

Trastorno	Etiología	Modificaciones plasmáticas
Hiperlipemia tipo IV	Consumo de azúcares Diabetes	Hipertrigliceridemia Aumento de VLDL
Hiperlipemia tipo V	Alcoholismo	Hipertrigliceridemia muy marcada Aumento de QM y VLDL
Hiperapo-β-lipoproteinemia	Síntesis de Apo B-100	Hipertrigliceridemia Aumento de VLDL
Síndrome nefrótico	Activación de la síntesis de apoproteínas	Hipertrigliceridemia Aumento de VLDL

*QM: quilomicrones; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad (**V**ery-**L**ow-**D**ensity **L**ipoproteins); IDL: lipoproteínas de densidad intermedia (**I**ntermediate-**D**ensity **L**ipoproteins).*
Los tipos de hiperlipemia se corresponden con la clasificación de la OMS.

8. Hidrólisis de los triglicéridos por la lipoproteína lipasa

Los triglicéridos contenidos en las lipoproteínas son utilizados por aquellos tejidos que contienen en sus endotelios la enzima lipoproteína lipasa (LPL). Los déficit de LPL originan hipertrigliceridemia muy marcada. Puesto que no se puede utilizar la grasa de la dieta, se recomienda limitar la ingesta a unos 20 g/día. De no limitarse la grasa, los trastornos más frecuentes son las alteraciones pancreáticas y los xantomas cutáneos eruptivos. Suelen aparecer tras episodios de fuerte dolor abdominal y son frecuentes en los niños.

La LPL origina la hidrólisis de los triglicéridos liberando los ácidos grasos que difunden al interior del tejido **(Figura 4)**. La enzima se incrusta en las lipoproteínas y va vaciando de triglicéridos la misma, lo que origina grandes cambios en las partículas que se analizarán más adelante.

Los tejidos más ricos en LPL y por tanto los destinos mayoritarios de los triglicéridos son el músculo y el tejido adiposo. La glándula mamaria es otro tejido con elevada cantidad de LPL. En el hígado, el proceso es especial, como se verá más adelante. El hígado capta los triglicéridos excedentes del consumo de los tejidos periféricos, por lo que no es un destino propiamente dicho.

En el músculo, los ácidos grasos se consumen para la obtención de energía. En el tejido adiposo se almacenan de nuevo como triglicéridos para, en situaciones de falta de glucosa, volver a hidrolizarse y salir a la sangre. Los ácidos grasos así liberados y transportados por la albúmina pueden ser consumidos por el músculo y otros tejidos. Los ácidos grasos captados por la glándula mamaria, una vez convertidos en triglicéridos pasarán a la leche. En el caso del hígado, como se ha indicado, la hidrólisis de las lipoproteínas supone el retorno de todos los elementos no utilizados por los tejidos periféricos y que serán empleados para la síntesis de nuevas lipoproteínas.

En el ayuno, cuando los triglicéridos plasmáticos están bajos, el destino mayoritario es el músculo. En el periodo posprandial, cuando los triglicéridos plasmáticos están altos, se almacenan en el tejido adiposo. La LPL del tejido adiposo tiene una afinidad menor que la del músculo por las lipoproteínas; por tanto, cuando las concentraciones de lipoproteínas son bajas, apenas las utiliza. Esta regulación básica, pero suficiente, se completa con los efectos de diversas hormonas **(Tabla 5)**. En la glándula mamaria, aunque la K_m es alta, el efecto de la prolactina y la resistencia insulínica hacen que se desvíe una gran cantidad de triglicéridos para la lactancia.

En el hígado fetal existe LPL, pero su expresión va disminuyendo con el desarrollo, de forma que apenas es detectable en el adulto. El fenómeno es similar al que ocurre con la α-fetoproteína. En el adulto se encuentra una lipoproteína lipasa especial denominada lipasa hepática.

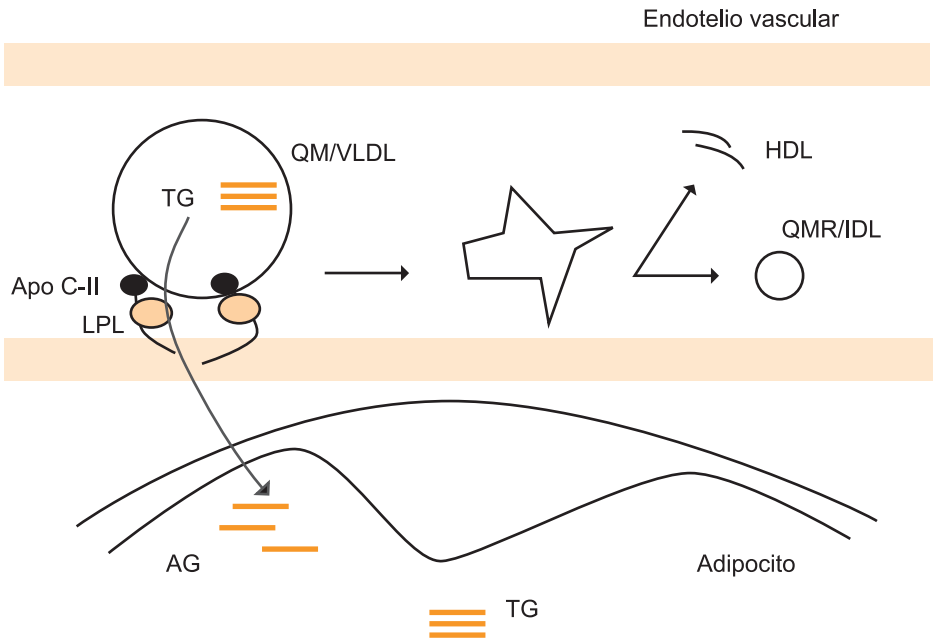


Figura 4. *Asimilación de los triglicéridos y cambios originados en las lipoproteínas. El proceso de hidrólisis puede repetirse en distintos puntos del endotelio, descargándose los triglicéridos poco a poco. Apo: apoproteína; QM: quilomicrón; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad; QMR: remanente de quilomicrón; IDL: lipoproteína de densidad intermedia; HDL: lipoproteína de alta densidad; AG: ácido graso; TG: triglicérido; LPL: lipoproteína lipasa.*

Tabla 5. CARACTERÍSTICAS DE LA LIPOPROTEÍNA LIPASA EN DIVERSOS TEJIDOS

Tejido	K_m	Estimulan	Inhiben
Músculo	Baja	HT, GC	Insulina
Tejido adiposo	Alta	Insulina, HT, GC	Adrenalina
Glándula mamaria	Alta	Prolactina	

K_m: constante de Michaelis; HT: hormonas tiroideas; GC: glucocorticoides.

La lipasa hepática homóloga a la LPL y a otras lipasas, a diferencia de la LPL de los tejidos periféricos, tiene una importante actividad fosfolipasa y actúa sobre partículas pequeñas. El resultado de la acción puede ser doble: la hidrólisis de triglicéridos (que ocurre, principalmente, con lipoproteínas de tamaño reducido) o la destrucción de la lipoproteína si el tamaño es muy pequeño. Como se verá más adelante, la acción ocurre fundamentalmente sobre las HDL.

9. Cofactores de la lipoproteína lipasa

La lipoproteína lipasa es una ectoenzima. Se trata de una proteína de secreción que queda atrapada en los endotelios en virtud de su interacción con los proteoglicanos del tipo heparán sulfato y otros componentes externos de las membranas (Figura 5). El conocido hecho de que la heparina induce una rápida bajada en los triglicéridos

plasmáticos ("poder clarificante" de la heparina) se debe a su capacidad de atrapar más LPL, por su similitud con los heparán sulfatos.

La LPL puede liberarse de los endotelios y de hecho se libera, ya que su destrucción tiene lugar en el hígado. La enzima puede viajar unida a distintas lipoproteínas, muy especialmente a las HDL. La LPL también puede ser captada por la célula endotelial. Existe un ciclo de captación de la enzima y reenvío a la superficie en la célula endotelial. Las concentraciones intracelulares de ácidos grasos parecen ejercer un control sobre la salida, lo que se sumaría a los otros efectos reguladores antes señalados.

La interacción de la LPL con las lipoproteínas tiene lugar por la apoproteína C-II. Esta proteína favorece el acoplamiento entre la enzima y la partícula a fin de hidrolizar los triglicéridos contenidos en el interior. Por otra parte, la interacción sirve para anclar durante más tiempo las partículas al endotelio, lo que evita, así, que sean arrastradas por el torrente sanguíneo. De la importancia de estas interacciones da cuenta el hecho de que la falta de Apo C-II anule la actividad LPL, originando hipertrigliceridemia, igual que si faltase la enzima, aunque los síntomas son más suaves y aparecen más tardíamente.

La Apo C-II debe unirse a los quilomicrones y VLDL en la circulación, ya que no se encuentran en las lipoproteínas nacientes. Esta proteína se secreta dentro de las HDL, como se verá más adelante. Algunos autores han denominado el proceso de captación de Apo C-II como de maduración de esta partículas, ya que, como se ha visto, estas lipoproteínas no se podrían hidrolizar por la LPL sin la apoproteína.

10. Transformaciones de las lipoproteínas tras la lipólisis

Tras la acción hidrolítica de la LPL sobre quilomicrones y VLDL, las partículas que han perdido parte de su contenido en triglicéridos se desprenden de parte de la envoltura superficial, que al quedarse vacías las haría muy inestables **(Figura 4)**. De esa forma, quedan como partículas más pequeñas denominadas remanentes. A los remanentes de las VLDL se les denomina lipoproteínas de densidad intermedia (IDL). Como se muestra en la **Figura 6**, la superficie de las lipoproteínas tras la lipólisis puede adoptar pliegues que pueden desprenderse, al estar constituidos por lípidos polares (fosfolípidos y colesterol no esterificado) y proteínas. El proceso recuerda a una gemación.

Las partículas desprendidas con forma de discos tienen mucha semejanza a las lipoproteínas HDL-3 *(ver más adelante)*, siendo, a veces, imposible distinguirlas. De hecho, las proteínas que contienen pueden haberlas recibido de las HDL, como es el caso de

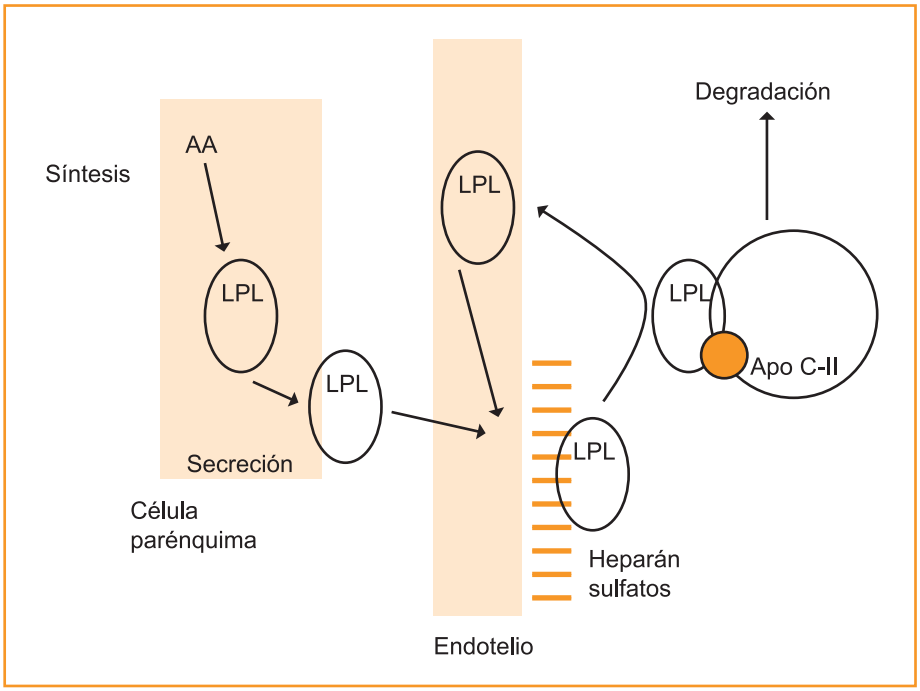


Figura 5. *Síntesis y localización de la lipoproteína lipasa. Los heparán sulfatos se encuentran en toda la superficie del endotelio, aunque sólo se muestra una zona. Apo: apoproteína; LPL: lipoproteína lipasa; AA: aminoácidos.*

la Apo C-II. También cabe pensar que los elementos que se desprenden se unan a las HDL ya existentes y formen parte de ellas. En un sentido amplio, se puede decir que la acción de la LPL en las lipoproteínas genera lipoproteínas HDL.

La falta de la actividad LPL da lugar a una menor producción de HDL-3 y, de otra parte, el mayor contenido en triglicéridos de las HDL las hace más susceptibles de destrucción por la lipasa hepática, lo que conduce también a su disminución. Teniendo en cuenta estos hechos, es lógico pensar que las hipertrigliceridemias debidas a falta de actividad lipolítica, por tener menor cantidad de HDL, deben ser consideradas como un factor de riesgo aterosclerótico.

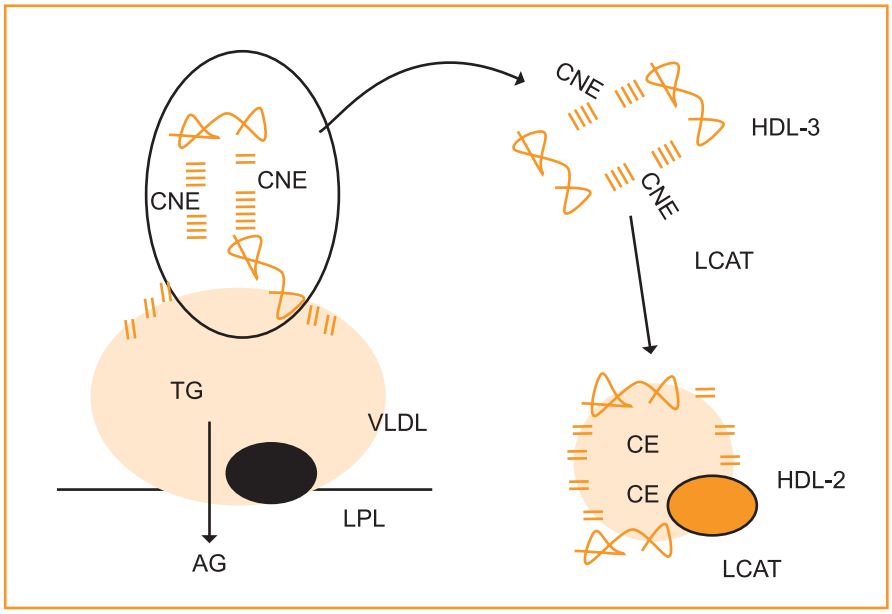


Figura 6. *Formación de HDL tras la lipólisis y remodelación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. Al perder componentes internos, se producen muchas modificaciones en la superficie del tipo de la indicada. AG: ácido graso; TG: triglicérido; CNE: colesterol no esterificado; CE: colesterol esterificado; LPL: lipoproteína lipasa; LCAT: lecitina-colesterol-acil transferasa; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad; HDL: lipoproteína de alta densidad.*

La pérdida de elementos de superficie no es el único cambio. Los remanentes pueden recibir colesterol esterificado en intercambio por triglicéridos por acción de las proteínas transferidoras de lípidos de las HDL **(Figura 7)**.

La pérdida de triglicéridos en una IDL y la ganancia de colesterol esterificado configuran una partícula formada por Apo B-100 y colesterol en su interior que se conoce como LDL. Las otras proteínas que pudiera llevar la IDL también se transfieren a medida que la partícula se hace más pequeña. En realidad, las LDL contienen casi exclusivamente colesterol esterificado en su interior y Apo B-100 en su exterior. Estas LDL ahora transportan colesterol y no triglicéridos hacia los tejidos periféricos.

11. Captación de los remanentes de lipoproteínas

Las lipoproteínas remanentes de la lipólisis por la LPL, esto es, los remanentes de quilomicrón y los de VLDL (IDL) pueden interaccionar con los receptores hepáticos merced a su Apo E.

Como se indicó anteriormente, esta apoproteína se sintetiza en el hígado y se secreta como parte de las VLDL, pero, como también se indicó, puede transferirse a los quilomicrones, por lo que ambas lipoproteínas pueden ser captadas por el hígado.

En el hígado, existen varios tipos de receptores con afinidad por la Apo E. Las lipoproteínas con Apo E pueden interaccionar con los receptores Apo E específicos y también con los receptores Apo B-100 (la afinidad del receptor por la Apo E es incluso mayor que por la Apo B-100). En realidad, los receptores para la Apo B-100 debieran denominarse receptores Apo B/E. El receptor Apo B/E está regulado por los niveles intracelulares de colesterol *(ver más adelante)*, mientras que el receptor Apo E no lo está. Esto significa que el hígado, por poseer el receptor Apo E permite la captación de lipoproteínas en cualquier circunstancia.

Por lo que al flujo de lípidos se refiere, la captación de lipoproteínas remanentes puede concebirse como un atajo del ciclo general. De este modo

los lípidos liberados al plasma vuelven al hígado tras dejar cierta cantidad de ácidos grasos en los tejidos periféricos pero con todo el colesterol con el que salieron. Como se verá más adelante, el aporte de colesterol a los tejidos periféricos tiene lugar por las LDL, que proceden de las IDL no captadas por el hígado.

Así, puede entenderse que el colesterol de la dieta, transportado por los quilomicrones se dirige básicamente al hígado. El hígado, en función de la cantidad de colesterol que recibe, ajusta la síntesis *de novo* del mismo y permite regular los niveles totales de colesterol. Por tanto, el colesterol que se dirige a los tejidos es el ingerido en la dieta más el que sea necesario sintetizar en función de la demanda de los tejidos.

No se han descrito alteraciones en el receptor Apo E, pero sí una alteración de la Apo E que impide su interacción con el receptor. El trastorno se denomina disbetalipoproteinemia. Las consecuencias son el mantenimiento de lipoproteínas remanentes en gran cantidad (denominadas β-flotantes por tener una densidad ligeramente inferior a las LDL o β-lipoproteínas). Estas lipoproteínas no parecen ser utilizadas eficientemente por la LPL ni interaccionan con los receptores Apo B/E de los tejidos periféricos, quedando en circulación durante mucho tiempo. Como se explicará más adelante, son muy aterogénicas, al poderse modificar con facilidad.

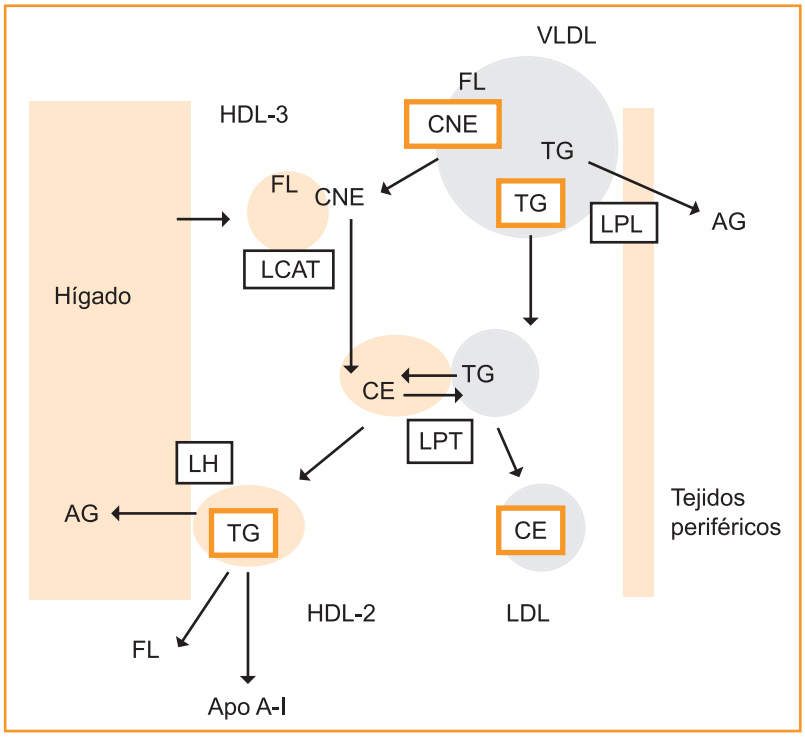


Figura 7. *Transferencia de lípidos entre lipoproteínas. Se han destacado los movimientos de colesterol y triglicéridos. VLDL: lipoproteína de muy baja densidad; HDL: lipoproteína de alta densidad; LDL: lipoproteína de baja densidad; LCAT: lecitina-colesterol-acil transferasa; AG: ácido graso; FL: fosfolípido; CNE: colesterol no esterificado; CE: colesterol esterificado; TG: triglicérido; LPL: lipoproteína lipasa; LPT: proteína transferidora de lípidos; LH: lipasa hepática; Apo: apoproteína.*

12. Captación de lipoproteínas de baja densidad

Como se ha indicado, tras la lipólisis de las lipoproteínas se generan remanentes, muchos de los cuales son captados por el hígado. Otros sufren intercambios de lípidos y acaban convirtiéndose en LDL (**Figuras 7 y 8**). Las LDL son vehículos de colesterol y aportan el mismo a aquellos tejidos que presenten en su superficie el receptor Apo B/E. Las LDL no captadas quedan circulando o son recogidas por los macrófagos y destruidas.

Todos los tejidos expresan el receptor B/E siempre que necesiten colesterol, lo cual coincide fundamentalmente con la síntesis de membranas y lo reprimen cuando la concentración intracelular es elevada, ya que la acumulación de colesterol no es deseable en ninguna célula. El aporte a los tejidos esteroidogénicos se tratará más adelante, al hablar de las HDL.

El acúmulo de colesterol intracelular puede ser un problema para las células. El colesterol no esterificado se inserta en las membranas en las que aporta rigidez. El acúmulo de colesterol en las membranas puede provocar la pérdida de la actividad de muchas proteínas de membrana a consecuencia de la rigidez impuesta. Una forma en la que la célula se defiende es esterificándolo,

la otra es impidiendo su entrada, que es lo mismo que decir la de la lipoproteína.

La esterificación del colesterol, que tiene lugar por la enzima acil-CoA-colesterol-acil transferasa (ACAT), aunque resuelve el problema fundamental, puede conducir a la vacuolización de la célula cuando la concentración es muy alta. Así ocurre en los macrófagos, lo que les da un aspecto característico y que ha dado lugar a la denominación de "células espumosas" *(ver más adelante)*.

Cuando los tejidos no expresan receptores, las lipoproteínas quedan en la circulación **(Figura 8)**. Esto puede explicar el aumento de colesterol con la edad. Así, la disminución en el crecimiento, esto es, la menor necesidad de colesterol para hacer membranas hace que disminuyan los receptores.

El hígado no es una excepción y, como los demás tejidos, también modula la entrada de estas partículas en función del colesterol intracelular. En el caso del hígado, el colesterol se utiliza, además de para hacer membranas, para la síntesis de sales biliares. Éstas, junto a la considerable cantidad del mismo que se vierte a la bilis, constituyen una vía de salida del colesterol de la circulación. De hecho, una de las estrategias que se usan para rebajar las hipercolesterolemias es inducir la salida de ácidos biliares a fin de que vuelvan a expresarse receptores y se capten más LDL.

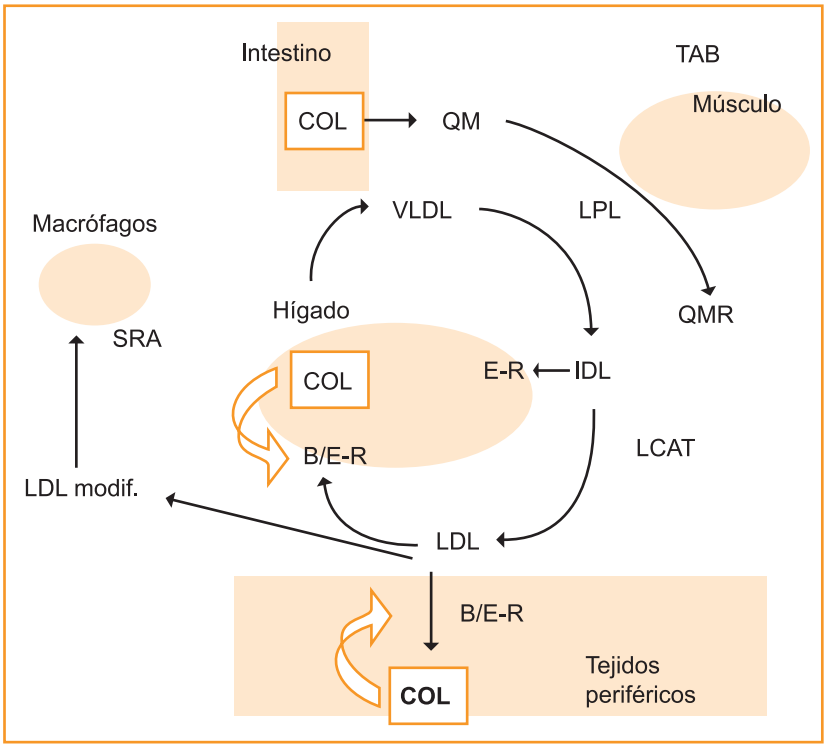


Figura 8. *Origen y destino del colesterol plasmático. Se ha destacado la regulación de los receptores por el colesterol. QM: quilomicrón; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad; QMR: remanente de quilomicrón; IDL: lipoproteína de densidad intermedia; LDL: lipoproteína de baja densidad; LDL modif.: lipoproteína de baja densidad modificada; LPL: lipoproteína lipasa; LCAT: lecitina colesterol acil transferasa; E-R: receptor de la Apo E; B/E-R: receptor de la Apo B-100/E; SRA: receptor scavenger tipo A; TAB: tejido adiposo blanco; COL: colesterol.*

13. Características del receptor B/E

El receptor B/E une lipoproteínas que contengan Apo B-100 o Apo E, pero no Apo B-48. Así, los ligandos de este receptor son, además de las LDL (con sólo Apo B-100), las IDL (con Apo B-100 y Apo E), las HDLc (con Apo E) y otras lipoproteínas como las β-flotantes (con Apo B-100 y Apo E), la lipoproteína (a) [con Apo B-100 y Apo (a)], pero nunca los quilomicrones ni sus remanentes. Aunque las VLDL contienen Apo B-100 y Apo E, por su gran tamaño no son tampoco ligandos.

En cuanto a la interacción con las LDL, se conoce que hay diferencias entre subfracciones. Dentro de las LDL hay que considerar dos subfracciones: las LDL densas y las menos densas. A estas fracciones se las conoce también como LDL tipos B y A, respectivamente. Las LDL densas son características de la hiperlipemia familiar combinada, y se diferencian de las menos densas por su menor contenido en ácido siálico y en lípidos. Por su pequeño tamaño interaccionan mal con el receptor, y ésta puede ser la razón de la alta incidencia de aterosclerosis en la hiperlipemia familiar combinada.

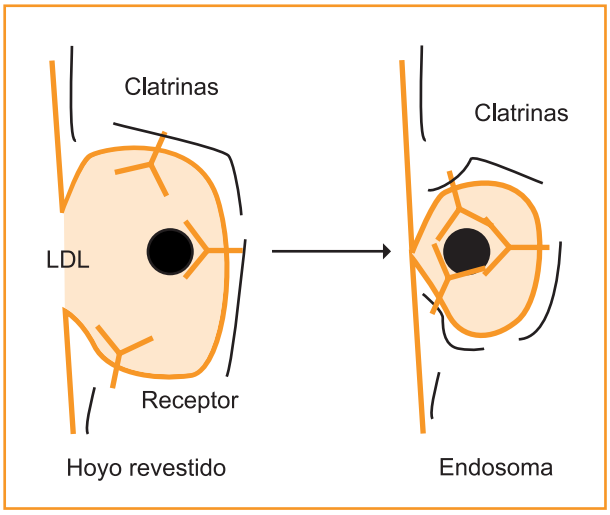


Figura 9. *Esquema del proceso de entrada de las lipoproteínas a través del receptor B/E. Se han omitido los pasos intermedios que llevan al cierre del hoyo revestido y formación del endosoma. LDL: lipoproteína de baja densidad.*

Como habrá podido observarse, el tamaño juega un papel importante. Así, para lipoproteínas con la misma apoproteína, cuando disminuye el tamaño (LDL densas) o cuando aumenta (VLDL) las interacciones disminuyen. Ello puede explicarse a la vista del proceso de entrada de la lipoproteína, que requiere de la invaginación de la membrana para formar el endosoma **(Figura 9)**. Cuando el tamaño es inadecuado, no se puede formar el endosoma.

Los receptores B/E se encuentran ubicados en invaginaciones de la membrana denominados "hoyos revestidos". El revestimiento lo constituye una proteína rígida llamada clatrina, que mantiene los receptores presentes en dicho hoyo agrupados **(Figura 9)**. Al entrar una lipoproteína, la atracción entre receptores y apoproteínas hace que se muevan todos ellos hasta englobarla. Al tiempo que se mueven, arrastran la clatrina, la cual tira de la membrana hasta cerrar el hoyo en torno a la lipoproteína. El proceso no podría hacerse sin el concurso de la clatrina, ya que los receptores podrían moverse libremente en la membrana y nunca formarían el endosoma.

Los endosomas que contienen las lipoproteínas se fusionan con los lisosomas. Al fusionarse se pone en contacto la lipoproteína con el arsenal de enzimas hidrolíticas de éstos, que acaban descomponiendo la lipoproteína **(Figura 10)**.

Los receptores son reutilizados más de una vez. Los cambios de pH que tienen lugar en los endosomas a medida que se fusionan con los lisosomas facilitan que se desprendan los receptores y puedan volver de nuevo a la membrana.

El colesterol se libera al citoplasma en su forma no esterificada desde los lisosomas y se dirige al retículo endoplásmico. El aumento de colesterol en el retículo altera la fluidez de esas membranas, de tal forma que disminuye la actividad de la enzima hidroxi-metil-glutaril-CoA reductasa. Esta disminución supone la inhibición de la síntesis *de novo* de colesterol.

Por otro lado, el colesterol no esterificado del retículo inhibe la proteolisis del precursor de las proteínas de unión al elemento regulador del gen del receptor B/E. Estas proteínas SREBP son factores de transcripción. Las SREBP son parte de una proteína precursora que se encuentra en el retículo. Cuando hay poco colesterol en el retículo se produce la proteólisis y las SREBP migran al núcleo iniciando la transcripción, que conduce a la expresión de receptores en la membrana. Cuando hay mucho colesterol, no se forman estos factores de transcripción (*ver Capítulo 1.31*).

En tejidos exportadores de lipoproteínas como el hígado, el colesterol también puede incorporarse a las lipoproteínas nacientes como tal o una vez esterificado. Rara vez se acumula como colesterol esterificado *(ver más adelante)*.

14. Captación de lipoproteínas modificadas

Las modificaciones son fundamentalmente el resultado de reacciones de oxidación y acetilación. La oxidación parece ser el proceso más frecuente y se lleva a cabo por enzimas liberadas por los macrófagos, como la lipooxigenasa, la mieloperoxidasa, la ceruloplasmina, etc. El resultado es la formación de peróxidos y oxisteroles que alteran la estructura de la lipoproteína, así como la fragmentación de la apoproteína.

Estos procesos tienen lugar principalmente en las lipoproteínas que entran en el espacio extravascular (normalmente, en la íntima arterial). La presencia de proteoglicanos favorece la modificación, al mantenerlas retenidas **(Figura 11)**. Tam-

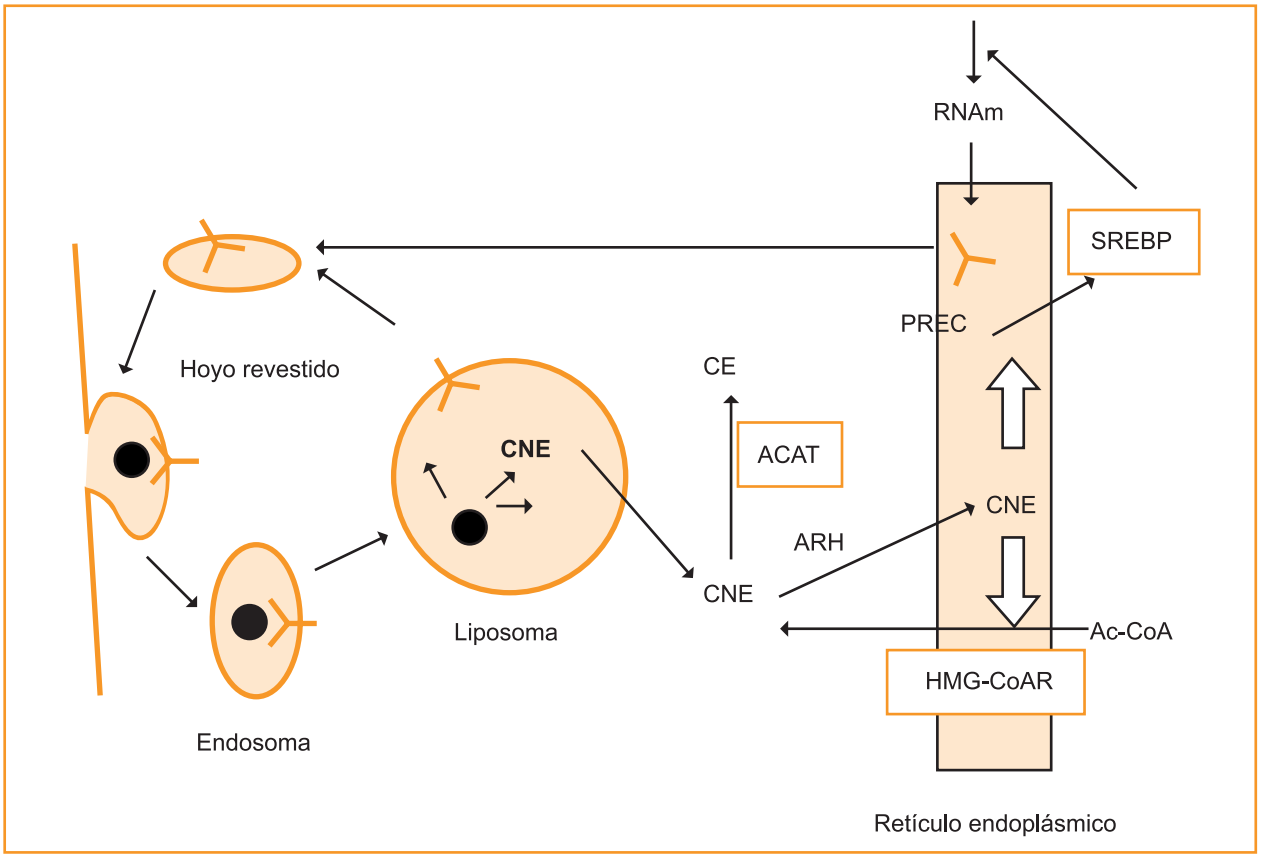


Figura 10. *Metabolismo de las lipoproteínas y efectos del colesterol. CNE: colesterol no esterificado; CE: colesterol esterificado;ARH: proteína transferidora ausente en la hipercolesterolemia autosómica recesiva; ACAT: acil-CoA-colesterol-acil transferasa; HMG-CoAR: hidroximetil-glutaril-coenzima A reductasa; Ac-CoA: acetil coenzima A; PREC: precursor; SREBP: factor de transcripción del gen del receptor B/E; RNAm: RNA mensajero.*

bién existen modificaciones en el seno del plasma, como, por ejemplo, la glicosilación en el caso de diabéticos.

Las lipoproteínas con lípidos oxidados se convierten en agentes muy lesivos para las células endoteliales. Esto favorece la rotura del endotelio y la entrada en la íntima arterial de lipoproteínas. Asimismo, se comportan como potentes quimiotácticos y activadores para los monocitos, lo que origina la entrada de macrófagos. Estos dos procesos son cruciales en la formación del ateroma **(Figura 11)**.

En los macrófagos, la captación de las lipoproteínas está mediada tanto por receptores B/E como por los receptores *scavenger*. A diferencia de los receptores B/E, los *scavenger* no están regulados por la concentración intracelular de colesterol; de ahí que los macrófagos puedan captar lipoproteínas sin límite.

Tras la interacción con el receptor, la lipoproteína se degrada completamente. El colesterol, a diferencia del resto de componentes, no es degradable y se acumula en forma de ésteres **(Figura 11)**. La esterificación mediada por la enzima acil-CoA colesterol acil transferasa se ve estimulada por las lipoproteínas oxidadas. El acúmulo puede ser tan grande que el macrófago llega a adoptar una forma de célula completamente llena de vacuolas (como los adipocitos), que se denomina célula espumosa. Estas células son típicas de los ateromas (*ver Capítulo 4.19*).

Los receptores *scavenger*, de los que se han descrito varios tipos, son una clase de receptores que reconocen proteínas modificadas, tanto apoproteínas como otras proteínas no relacionadas con los lípidos como colágeno o trombospondina. En realidad, recogen proteínas raras, de ahí su denominación (*scavenger*: basurero). Un tipo especial de

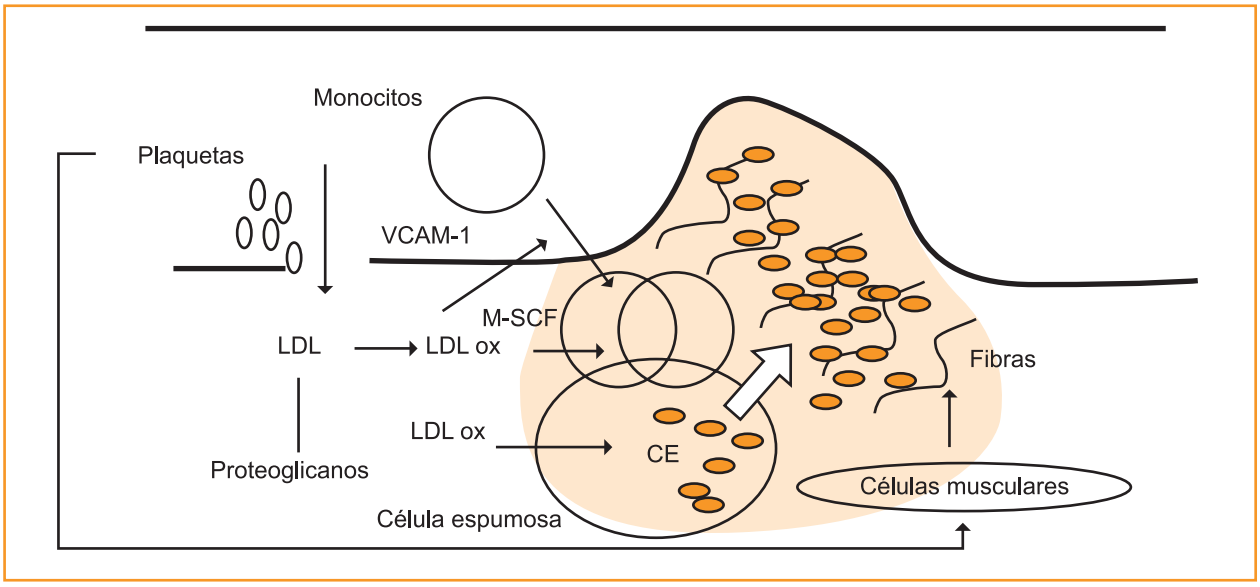


Figura 11. *Depósito de lipoproteínas en la íntima arterial y formación de ateromas. Los círculos representan el colesterol acumulado. La flecha indica la salida de dicho colesterol por la necrosis de los macrófagos. LDL: lipoproteína de baja densidad; LDL ox: lipoproteína de baja densidad oxidada; CE: colesterol esterificado; VCAM: moléculas de adhesión; M-SCF: factor estimulante de la proliferación de monocitos.*

estos receptores es el responsable de la entrada de colesterol de las HDL en los tejidos esteroidogénicos *(ver más adelante)*.

Por lo que se refiere a las lipoproteínas, todas aquellas lipoproteínas que presenten apoproteínas raras serán captadas. Cabe recordar, por ejemplo, las β-flotantes, en las que existe una Apo E anómala o la lipoproteína (a), con la proteína (a), muy semejante al plasminógeno. Pero quizás la fuente principal sean las LDL que se hayan modificado. Dado que las LDL son partículas finales del metabolismo, que pueden quedar circulando durante tiempo, son por ello candidatas a sufrir modificaciones mucho más que cualquier otra lipoproteína cuya vida en circulación es menor.

Los macrófagos al destruirse dejan colesterol esterificado en la íntima arterial. Ese tipo de colesterol es imposible de retirar del lugar, dado que extracelularmente no hay enzimas para hidrolizarlo. Por el contrario, mientras permanece en los macrófagos, dada la existencia de colesterol esterasas, puede ser hidrolizado y como tal retirado de la célula por las HDL *(ver más adelante)*.

Se comprenderá fácilmente que la captación de lipoproteínas por los macrófagos y su posterior vertido son elementos clave en el proceso de formación del ateroma. De ahí que una estrategia de lucha contra la aterogénesis sea impedir la oxidación, que conduce a la captación de las lipoproteínas, mediante antioxidantes. El probucol, la vitamina E, el β-caroteno, etc., se utilizan con ese objetivo (*ver Capítulo 4.19*).

15. Síntesis de lipoproteínas de alta densidad

La procedencia de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) es diversa. Ello es debido a que estas lipoproteínas son agrupaciones de lípidos con apoproteínas y enzimas de diversos orígenes. La mayoría de las apoproteínas y todas las enzimas proceden del hígado, aunque hay proteínas que también se hacen en el intestino (Apo A-I), e incluso hay proteínas de procedencia exclusivamente intestinal como la Apo A-IV.

Las apoproteínas de las HDL por su menor tamaño no engloban muchos lípidos. Esto hace que la estructura fundamental de la lipoproteína sea la de discos. Son proteínas pequeñas con hélices

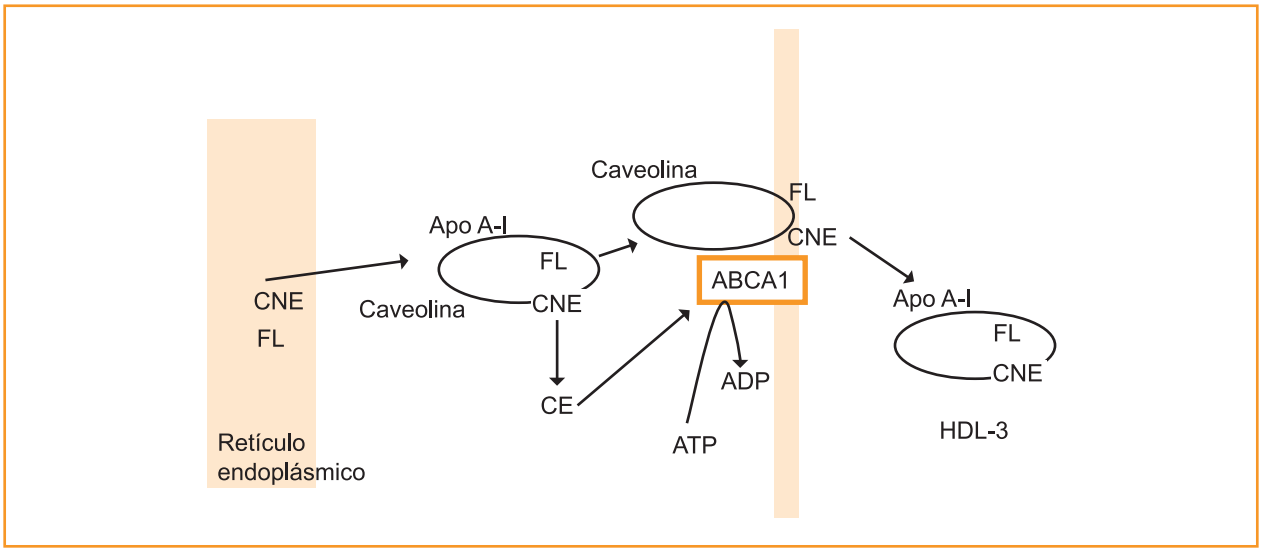


Figura 12. *Ensamblaje y secreción de lipoproteínas de alta densidad. FL: fosfolípido; CNE: colesterol no esterificado; Apo: apoproteína; CE: colesterol esterificado; ATP: adenosín trifosfato; ADP: adenosín difosfato; HDL: lipoproteína de alta densidad; ABCA1: proteínas en cassette enlazantes de ATP tipo A1.*

anfipáticas capaces de adherir lípidos anfipáticos como colesterol no esterificado o fosfolípidos. La agrupación para formar la lipoproteína puede tener lugar intracelularmente, en la superficie de las células e incluso en el plasma (recuérdese que la lipólisis origina partículas HDL).

Los lípidos y proteínas que se encuentran en el retículo endoplásmico pueden unirse a la Apo A-I y otras proteínas. Las asociaciones lípido-proteína viajan desde el retículo a la membrana junto a proteínas del tipo caveolina. Estas últimas dirigen la partícula hacia zonas de la membrana (caveolas o *rafts*) que se caracterizan por su alto contenido en colesterol **(Figura 12)**.

En las caveolas tienen lugar procesos de secreción de fosfolípidos y colesterol mediante un mecanismo de intercambio entre las dos caras de la membrana. Al proceso se le conoce como "flip-flop" y a las proteínas que lo mantienen flip-flopasas, las cuales son transportadores activos. Una vez transportado el lípido al exterior de la membrana, puede quedar allí o desprenderse junto a alguna apolipoproteína que salga (como la Apo A-I), formando una HDL naciente con forma de disco. A estas formas se las denomina HDL-3.

Los procesos flip-flop son generales en todas las membranas, siendo los responsables de mantener la asimetría de las mismas. En las caveolas tienen significación especial por el acúmulo de lípidos que allí tiene lugar; estos lípidos son por lo general secretados al exterior. El mecanismo también sirve para la salida de sustancias relativamente insolubles como la bilirrubina, los xenobióticos o los ácidos biliares. Así, en circunstancias de obstrucción biliar, se pueden detectar lipoproteínas denominadas "X" (LpX) muy ricas en estos ácidos.

El transporte de la cara interna a la externa de la membrana tiene lugar por acción de las proteínas ABC. Las proteínas ABC son transportadores activos que consumen energía. De hecho su nombre proviene de su capacidad para enlazar ATP (ATP *binding cassettes*). Buena prueba de su dependencia de energía es el hecho de que en circunstancias de déficit energético, como ocurre en la diabetes, se produce una bajada de su actividad, lo que conduce a una disminución de las HDL plasmáticas.

De todas las proteínas ABC, la ABCA1 parece jugar el papel principal. El déficit de esta proteína es el responsable de la enfermedad de Tangier, un trastorno en el que no existen HDL en el plasma. Las proteínas ABCA1 están reguladas por el nivel de colesterol esterificado. Así, cuando el nivel de colesterol esterificado aumenta en el citoplasma, se activa la salida de colesterol.

Se ha postulado que en la membrana de las células existen proteínas capaces de interaccionar con la Apo A-I a modo de receptores *(ver más adelante*

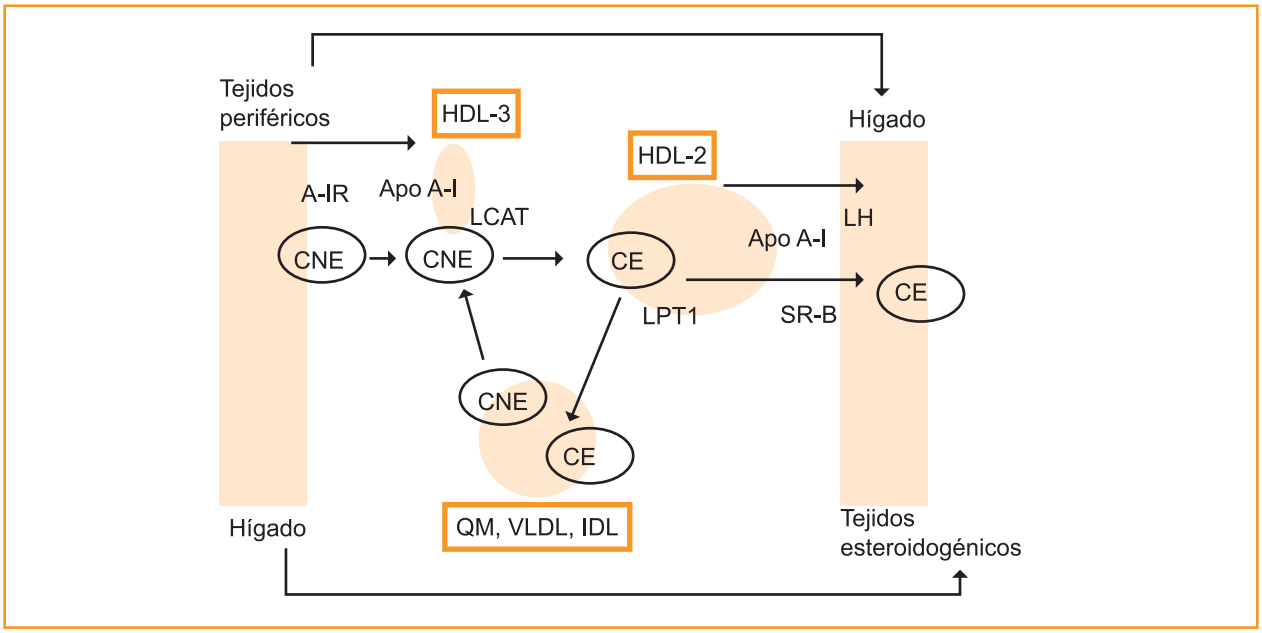


Figura 13. *Esterificación y transporte de colesterol en las HDL. CNE: colesterol no esterificado; CE: colesterol esterificado; HDL: lipoproteína de alta densidad; QM: quilomicrón; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad; IDL: lipoproteína de densidad intermedia; A-IR: receptor de Apo A-I; Apo: apoproteína; LCAT: lecitina colesterol acil transferasa; LPT1: proteína transferidora de lípidos tipo 1; LH: lipasa hepática; SR-B: receptor* scavenger *tipo B.*

receptores de HDL). No están bien caracterizadas y bien podría tratarse de proteínas asociadas a las proteínas ABC.

16. Esterificación de colesterol en las lipoproteínas de alta densidad

La enzima lecitina-colesterol-acil transferasa (LCAT) presente en las HDL es la responsable de la esterificación del colesterol. La enzima transfiere un ácido graso de un fosfolípido al colesterol formando colesterol esterificado y un lisofosfoglicérido. El colesterol esterificado se internaliza en la HDL y el lisofosfoglicérido se libera. Las partículas HDL-3 discoides al ganar colesterol esterificado adoptan entonces una forma esférica que se conoce como HDL-2 **(Figura 13)**. La LCAT requiere una combinación específica de apoproteínas para su funcionamiento. La Apo A-I resulta indispensable, mientras que la Apo A-IV supone una activación y la Apo A-II una inactivación.

El colesterol que se utiliza para la esterificación proviene en buena parte de las lipoproteínas que sufren la lipólisis, pero también de las membranas celulares. El colesterol recogido no vuelve al mismo lugar, pues como se ha explicado es internalizado tras su esterificación. Por esta acción, se considera a estas lipoproteínas antiaterogénicas, ya que se oponen al acúmulo de colesterol en un sitio concreto.

De todos los mecanismos por los que las HDL pueden recoger colesterol de los tejidos el más efectivo es el ligado a la Apo A-I. Esta apoproteína parece interaccionar con otra proteína de la membrana de los tejidos, lo que induce la salida de colesterol. Por analogía a como tiene lugar la entrada de colesterol en los tejidos, a esta proteína se la considera como un receptor de las HDL. Como se ha explicado anteriormente, esta proteína puede formar parte del conjunto de proteínas ligadas a las ABC que participan en la formación de las HDL nacientes. Cuando la HDL contiene, además de la Apo A-I, la Apo A-II, el proceso se impide.

Las HDL pueden ceder colesterol a diferentes tejidos. La cesión de colesterol a las glándulas

adrenales y a los ovarios parece ser suficiente para suplir la síntesis de hormonas esteroides. El otro destino del colesterol es el hígado. Las HDL-2 y especialmente las HDL-c pueden interaccionar con receptores. El mejor caracterizado es el receptor *scavenger* B1 (SR-B1), presente en los tejidos esteroidogénicos. En el hígado pueden interaccionar con los receptores Apo E o con los receptores B/E.

Parece claro que las HDL son redistribuidoras de colesterol entre los tejidos. En este sentido se ha fijado la atención exclusivamente en el retorno de colesterol desde los tejidos periféricos al hígado. En cualquier caso, ha de quedar claro que la relación entre las HDL y su efecto antiaterógenico es una relación compleja, ya que el destino del colesterol de las HDL es variable.

17. Transferencia de lípidos en las lipoproteínas de alta densidad

Estos procesos están mediados por diversas proteínas transferidoras **(Figura 7)**. Una de ellas, la LPT1 (también conocida como proteína transferidora de colesterol esterificado o CETP), es la encargada de intercambiar colesterol esterificado por triglicéridos. Otras, como la LPT2, intercambian fosfolípidos, así como otros lípidos, como el α-tocoferol. La Apo A-IV también media el proceso de intercambio de colesterol, así como el de vitaminas liposolubles.

El intercambio de colesterol esterificado por triglicéridos no altera la estructura de ninguna de las dos lipoproteínas participantes, dado que en ambos casos se trata de un lípido apolar y que ocupará el centro de la lipoproteína. No obstante, es de gran interés para entender el origen de las LDL, como se explicó anteriormente **(Figura 7)**.

El intercambio de fosfolípidos tampoco altera las estructuras de las lipoproteínas participantes. La significación de este intercambio se entiende cuando uno se fija en los fosfolípidos oxidados. Estos lípidos oxidados, presentes en lipoproteínas como las LDL, pueden ser recogidos por las HDL y destruidos por enzimas como la paraoxonasa o la acetil hidrolasa, presentes en las HDL. Este hecho es de enorme importancia en la génesis del ateroma, ya que se opone a la modificación de las lipoproteínas.

Las HDL-2 tras los intercambios suelen enriquecerse en triglicéridos **(Figura 7)** y, por tanto, se convierten en sustrato para la acción de la LPL o de la LH. La lipólisis de los triglicéridos convierte de nuevo a estas partículas en HDL-3.

Mención especial requiere la acción de la lipasa hepática (LH). Merced a su actividad fosfolipasa provoca la destrucción de la lipoproteína. Tanto el tamaño como la presencia de Apo A-II facilitan la acción de la LH. Cuanto mayor es la partícula, mayor es la acción de la LH. Ello explica por qué disminuyen las HDL cuando existe un déficit de LPL, situación en la que el contenido en triglicéridos es mayor.

Las apoproteínas tras la acción de la LH quedan libres para formar otra vez HDL-3 o pueden unirse a las HDL-3 existentes. Algunas, como la Apo A-I, pueden circular hasta los túbulos renales, donde son destruidas.

18. Metabolismo de las lipoproteínas en el neonato

En el feto hay una escasa cantidad de lipoproteínas, dado el escaso aporte de lípidos exógenos. Cuando las concentraciones aumentan puede ser indicativo de un distrés fetal, como consecuencia de una falta de captación de ácidos grasos para la síntesis de surfactante pulmonar. Se han descrito todos los tipos, aunque parece que las HDL son las mayoritarias.

Las lipoproteínas son sintetizadas por el hígado fetal. En ningún de los casos parece que las lipoproteínas atraviesen la placenta. La síntesis de triglicéridos tiene lugar fundamentalmente con los ácidos grasos de la madre. En este sentido, la placenta expresa una discreta actividad lipoproteína lipasa.

Los ácidos grasos que alcancen el hígado pasan a formar parte de las lipoproteínas dada la falta de carnitina que impide su oxidación. Estos ácidos grasos se usan con fines biosintéticos como, por ejemplo, para la síntesis de surfactante. Por lo que respecta al colesterol las demandas para crecimiento son grandes y resultan satisfactoriamente cubiertas por una actividad biosintética similar a la de adultos.

Las lipoproteínas aumentan durante el periodo fetal hasta el momento del nacimiento en que disminuyen. La disminución se debe fundamentalmente a la disminución de la lipogénesis hepática. En el momento del nacimiento están presentes todas las lipoproteínas salvo las VLDL.

La lipoproteína lipasa en los neonatos es muy baja, especialmente la del tejido adiposo, lo que permite que la mayoría de los triglicéridos se consuman en lugar de almacenarse. La actividad es casi indetectable en neonatos prematuros o con retraso del crecimiento intrauterino, lo que significa que la alimentación con triglicéridos no es útil a pesar de ser la más energética en condiciones normales.

En el hígado de los neonatos se ha descrito la existencia de LPL (cosa que no ocurre en los adultos). Esta actividad permite al hígado captar la mayor parte de la grasa de la dieta para la síntesis de cuerpos cetónicos, que durante este periodo de ayuno son los combustibles básicos. De la existencia de esta actividad puede explicarse la falta de VLDL antes mencionada.

La actividad LCAT es muy baja en los neonatos, aumentando rápidamente tras el nacimiento. En los recién nacidos prematuros es aún menor, lo que explica la hiperfosfolipemia e hipercolesterolemia en respuesta a las emulsiones lipídicas como el Intralipid. La actividad LCAT no aumenta en prematuros alimentados parenteralmente, lo que sugiere que es necesario el desarrollo intestinal para normalizar la actividad enzimática. Como se ha mencionado antes, uno de los activadores de la LCAT es la apoproteína A-IV sintetizada exclusivamente en el intestino.

La instauración de la lactancia produce un aumento significativo de las lipoproteínas LDL y un discreto aumento de las VLDL y HDL. La elevación de las LDL indica que el sistema funciona ya como se conoce en los adultos. Más aún, funciona muy bien, pues, a pesar de la sobrecarga de lípidos que supone la leche, sólo se observa un discreto aumento de VLDL.

La leche materna favorece el proceso, ya que ejerce un papel estimulador sobre las actividades lipolítica y esterificante del colesterol. Otros tipos de lactancia pueden presentar deficiencias. Así, por ejemplo, los niños alimentados con leche materna presentan mayores niveles de HDL que los alimentados con fórmulas artificiales. Nuestro grupo de investigación encontró que los nucleótidos presentes en la leche materna inducen la síntesis de Apo A-IV y en consecuencia activan la actividad LCAT y resultan de utilidad cuando se suplementan las fórmulas de recién nacidos prematuros. Como se describe en el Capítulo 1.16, los nucleótidos favorecen de una forma más amplia el desarrollo y maduración intestinal.

El metabolismo de las lipoproteínas evoluciona al del adulto incluso cuando los recién nacidos son alimentados parenteralmente. No obstante, el efecto de la alimentación enteral tiene una gran importancia, ya que el destete prematuro hace que el niño responda de forma anormal al colesterol de la dieta en edades posteriores. Al fenómeno se le ha denominado programación metabólica y, aunque mal definido, tiene que ver con el hecho de que durante la etapa perinatal la característica fundamental de todos los procesos metabólicos es su falta de regulación, que puede mantenerse desregulada por algún efecto dietético indeseable.

19. Efectos de la dieta sobre las lipoproteínas

Muchos son los estudios que describen los efectos de la dieta sobre el metabolismo de las lipoproteínas **(Tablas 6 y 7)** y muchas las propuestas de dietas para prevenir el avance de los procesos de aterosclerosis.

Como se muestra en la **Tabla 6**, el efecto de los ácidos grasos depende de su grado de insaturación y también del número de átomos de carbono de su cadena. En general, los ácidos grasos saturados aumentan el cociente LDL/HDL y, por ello, no son aconsejables en las dietas preventivas de la aterosclerosis. Los ácidos grasos poliinsaturados y sobre todo los procedentes de aceites de pescado (series n-3) tienen efectos preventivos y por tanto recomendables. Los ácidos grasos monoinsaturados, como el oleico, tienen efectos intermedios entre los saturados y los poliinsaturados. Los derivados *trans* de los ácidos grasos monoinsaturados, que pueden encontrarse en los aceites vegetales sometidos a procesos de desodoración, parecen comportarse como los ácidos grasos saturados.

El efecto beneficioso de los ácidos grasos poliinsaturados está relacionado tanto con la disminución de la síntesis de triglicéridos como de la secreción

Tabla 6. EFECTOS DEL CONSUMO DE DIFERENTES LÍPIDOS SOBRE LAS CONCENTRACIONES DE LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS

Nutriente	Efecto
Ácidos grasos	
Esteárico (C18), palmítico[a]	0
Palmítico (C16), mirístico (C14) y láurico (C12)	+LDL +HDL
Cáprico (C10) y caprílico (C8)	+LDL
Oleico (C18:1 n-9)	+HDL
Trans C18:1	+LDL -HDL
Linoleico (18:2 n-6) y linolénico (C18:3 n-3)	-LDL -HDL
Eicosapentaenoico (20:5 n-3)	-TG +LDL +HDL
Esteroles	
Colesterol	+LDL
Fitosteroles	-LDL
Tocoferoles	0
Tocotrienoles	-LDL

*LDL: lipoproteínas de baja densidad (***L***ow-***D***ensity* ***L****ipoproteins); HDL: lipoproteínas de alta densidad (***H***igh-***D***ensity* ***L****ipoproteins); TG: concentración de triglicéridos.*
Los aumentos se indican con signo +; las disminuciones, con signo -; y la ausencia de efecto, con 0.
[a] *En sujetos normolipémicos.*

de VLDL. La disminución puede ser debida a la alteración de la fluidez de las membranas del retículo o a la inhibición de la lipogénesis hepática.

La secreción de las VLDL es un proceso lento y que requiere que la Apo B disponga de una suficiente cantidad de triglicéridos para desprenderse de las membranas. Los cambios en la fluidez pueden afectar de forma significativa a ese desprendimiento. Por otra parte, el incremento en ácidos grasos plasmáticos inhibe la síntesis de ácidos grasos hepática y con ello de triglicéridos.

La síntesis de ácidos grasos es el agente estimulador más potente de la secreción de VLDL. La síntesis de Apo B responde a las mismas señales que incrementan la lipogénesis. Los triglicéridos pueden dirigirse bien a la exportación como VLDL o a la oxidación. Cuando escasea la Apo B, los triglicéridos se dirigen al citoplasma y aumenta la oxidación de los mismos.

El efecto de la grasa no sólo depende de la composición de ácidos grasos, sino que también depende de la posición del ácido graso en los triglicéridos, ya que las diferentes lipasas hidrolizan los ácidos grasos de posiciones específicas. Así, los triglicéridos formados de forma aleatoria pueden prevenir el efecto negativo del consumo de la grasa saturada.

La grasa de la dieta, especialmente la saturada, como se ha explicado anteriormente, es la principal causa de elevación de lipoproteínas LDL. Por otra parte, se ha sugerido que la concentración de colesterol en plasma es proporcional a la raíz cuadrada de su ingesta.

El consumo de fitosteroles (campesterol, sitosterol y estigmasterol) junto a colesterol disminuye la absorción de colesterol. Algo parecido ocurre con el consumo de sustitutos de la grasa. En ambos casos, al disminuir la absorción de colesterol,

Tabla 7. EFECTOS DEL CONSUMO DE DIFERENTES NUTRIENTES SOBRE LAS CONCENTRACIONES DE LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS

Nutriente	Efecto
Azúcares	
Monosacáridos, disacáridos y almidón	+TG
Fructooligosacáridos	0
Fibra soluble	-LDL
Fibra insoluble	0
Leches fermentadas	0
Proteínas	
Proteínas de soja	-TG -LDL
Otros	
Etanol a baja concentración	+HDL
Etanol a alta concentración	+TG
Ajo	-LDL

*TG: concentración de triglicéridos; LDL: lipoproteínas de baja densidad (**L**ow-**D**ensity **L**ipoproteins); HDL: lipoproteínas de alta densidad (**H**igh-**D**ensity **L**ipoproteins).*
Los aumentos se indican con signo +, las disminuciones, con signo -, y la ausencia de efecto, con 0.

disminuyen tanto las LDL como las HDL. La saturación de los esteroles aumenta la eficacia.

Por lo que respecta a los tocoferoles y tocotrienoles, su efecto es fundamentalmente antioxidante y sólo los tocotrienoles en cantidades significativas parecen tener un efecto sobre las LDL.

Además de los lípidos, nutrientes como los azúcares, las proteínas o el ajo influencian el metabolismo de las lipoproteínas **(Tabla 7)**. En muchos casos, los efectos aunque se sospechan no se han llegado a demostrar por ningún estudio. Para terminar, habría que distinguir entre los efectos sobre los lípidos en ayunas y los efectos posprandiales.

Hasta ahora la mayoría de los efectos que se describen se refieren a los efectos en ayunas, esto es, los efectos perdurables, y se ha prestado muy poca atención a los efectos posprandiales, a pesar de que los remanentes que se generan tras la comida son también aterogénicos.

Los efectos posprandiales conocidos permiten afirmar que la composición lipídica y glucídica de la dieta determinan el aumento en la concentración plasmática de triglicéridos o respuesta triglicerídemica.

Así, la respuesta es mayor cuando la dieta es muy rica en grasas, especialmente de tipo saturado, o en sacarosa.

20. Lipoproteínas, genes y nutrientes

Las interacciones entre genes y nutrientes lo son en un doble sentido. Por una parte, el polimorfismo de la población para un gen determina la respuesta a una determinada dieta, y por otra los nutrientes modulan ciertos genes (*ver Capítulo 1.31*).

Hay varios ejemplos de cómo los sujetos con variantes genéticas de una proteína responden de forma diferente a la dieta. Así, en el caso de la apoproteína E, ya se comentó que la variante E_2 origina una hiperlipemia al no interaccionar con los

Tabla 8. EFECTOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS SOBRE LA REGULACIÓN DE GENES DEL METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS

Vía SREBP1		Vía PPAR-α	
Represión	**Inducción**	**Represión**	**Inducción**
Receptor B/E	LPT	Apo C-III	LPL
HMGCoAR	LCAT	Acil-CoA sintasa	Apo A-I
Apo B	Apo A-I		Apo A-II
	Apo A-II		Apo C-II
	Apo E		

SREBP1: proteína de unión al elemento de respuesta de esteroides; PPAR: receptor del activador del proliferador de peroxisomas; HMGCoAR: hidroxi-metil-glutaril-coenzima A reductasa; LPT: proteínas transferidoras de lípidos; LCAT: lecitina-colesterol-acil tranferasa; LPL: lipoproteína lipasa.

receptores Apo E. También se sabe que la variante E_4 responde mejor a una dieta baja en colesterol y grasa saturada y al sitostanol. Todo hace pensar que en estos sujetos la absorción de colesterol es más activa que en los demás. Otro ejemplo puede ser la apoproteína A-IV, que al igual que en el caso anterior tiene que ver con la absorción intestinal de lípidos.

Por lo que respecta al efecto de nutrientes sobre genes **(Tabla 8)**, ya se ha mencionado el efecto del colesterol sobre la expresión del receptor B/E. El efecto tiene lugar a través del factor de transcripción SREBP1. Lo mismo sucede con los ácidos grasos poliinsaturados, que, interaccionando con ese factor, originan una represión de la síntesis de Apo B y un aumento de las apoproteínas A y E. Asimismo, se induce la expresión de LCAT y LPT. Por otra parte, los ácidos grasos poliinsaturados actuando sobre el factor de transcripción PPAR-α inducen la expresión de LPL y Apo C-II. Todo ello conduce a un aumento de las HDL y una reducción de las LDL.

Los factores de transcripción que se han visto responden a los ácidos grasos y al colesterol; también lo hacen a otros nutrientes. Así, el SREBP1 también responde a la glucosa. Ello pone de manifiesto que existe una regulación coordinada de los distintos nutrientes sobre estos factores y de estos factores para los diversos genes a los que controlan.

21. Resumen

- Los lípidos en el plasma circulan fundamentalmente como lipoproteínas, aunque la albúmina también contribuye.
- Las lipoproteínas son asociaciones de lípidos y proteínas con diferentes formas y densidades.
- La grasa de la dieta o la sintetizada en el hígado se hace circular en forma de quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad y los trastornos hepáticos e intestinales originan alteraciones del metabolismo que comprometen el aporte de nutrientes y vitaminas o favorecen la aterosclerosis.
- Los triglicéridos transportados por las lipoproteínas se utilizan por los tejidos que contienen lipoproteína lipasa.
- La actividad LPL depende de heparán sulfatos y apoproteínas.
- Las lipoproteínas tras la lipólisis sufren grandes transformaciones formándose HDL y LDL. Los remanentes de lipoproteínas interaccionan con los receptores de Apo E hepáticos. Las LDL son captadas por los tejidos en función de sus necesidades o permanecen circulando. El receptor B/E interacciona con muchas lipoproteínas si tienen la apoproteína y el tamaño adecuados. Los macrófagos recogen las lipoproteínas modificadas. El proceso de síntesis de las lipoproteínas de alta densidad es diferente al de las lipoproteínas de baja densidad. Las HDL pueden esterificar colesterol y transferirlo. Las HDL intercambian diversos lípidos con otras lipoproteínas.
- En el periodo neonatal hay aspectos singulares en el metabolismo de las lipoproteínas.
- La dieta modifica las concentraciones basales y posprandiales de lipoproteínas. La interacción entre genes y nutrientes permite conocer la respuesta de cada individuo a la dieta.

22. Bibliografía

Barker DJP. Mothers, babies and diseases in later life. BMJ Publishing. London, 1994.
En esta publicación se plantea la hipótesis de la programación metabólica sobre las evidencias recogidas del efecto de los nutrientes durante el periodo perinatal.

Blanco-Vaca F, Casacuberta AM, González Sastre F. Lipoproteínas de alta densidad: bases moleculares del metabolismo y relación con la aterosclerosis. En: González Sastre F, Guinovart JJ (eds.). Patología molecular. Masson. Barcelona, 2003: 263-87.
En este capítulo se hace un estudio detallado de las estructuras de las apoproteínas, mutaciones génicas y experimentos en animales transgénicos y *knock out*.

Brown MS, Goldstein LJ. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. Science 1986; 232: 34-47.
Éste es el artículo que revolucionó el campo de las lipoproteínas. Describe la forma en que se regula la entrada de colesterol en los tejidos.

Gibbons GF. Assembly and secretion of hepatic very-low-density lipoproteins. Biochem J 1990; 268: 1-13.
Este artículo describe los principales procesos del ensamblaje de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, los problemas que pueden presentarse y los efectos de la dieta. El estudio contiene también un análisis de las diferencias entre especies.

Hornstra G, Barth CA, Galli C, *et al.* Functional food science and the cardiovascular system. Brit J Nutrition 1998; 80: S113-S146.
Este capítulo describe los principales efectos de los nutrientes y ciertas dietas sobre el metabolismo de las lipoproteínas y su repercusión en la aterosclerosis.

Llobera M. Metabolismo de las lipoproteínas en la fase perinatal. En: Herrera E (ed.). Bioquímica perinatal. Fundación Ramón Areces. Madrid, 1986: 185-211.
Este capítulo recoge los datos de los cambios en las lipoproteínas durante el desarrollo en distintas especies. Describe el papel de la LPL hepática.

Sánchez-Pozo A, Morillas J, Moltó L, Robles R, Gil A. Dietary nucleotides influences lipoprotein metabolism in newborn infants. Pediatric Res 1994; 35: 112-6.
Artículo en el que se describen las diferencias en las lipoproteínas entre neonatos normales y prematuros y el efecto de los nucleótidos de la dieta.

Schmitz G, Kaminski WE, Orsó E. ABC transporters in cellular lipid trafficking. Current Opinion in Lipidology 2000; 11: 493-501.
Este artículo describe muchos de los procesos de endocitosis y exocitosis de lípidos y abre nuevas conexiones para la comprensión de enfermedades por almacenamiento de lípidos.

Uelmen PJ, Chan L. Metabolismo de las lipoproteínas de baja densidad y aterosclerosis. En: González Sastre F, Guinovart JJ (eds.). Patología molecular. Masson. Barcelona, 2003: 219-49.
En este capítulo se describe la estructura y propiedades de las apoproteínas B y E, así como los receptores para estas proteínas. Se analiza el proceso de modificación de las lipoproteínas y su papel en la formación del ateroma.

Vilaró S, Buscá R, Olivecrona T, Reina M. Bases moleculares y genéticas de la quilomicronemia. En: González Sastre F, Guinovart JJ (eds.). Patología molecular. Masson. Barcelona, 2003: 181-209.
Aquí se describen con todo detalle la estructura y función de las lipoproteínas lipasas y de sus cofactores.

23. Enlaces web

- www.medicinenet.com/cholesterol/focus.htm
- www.lipoproteins.net
- www.medlineplus/cholesterol.html
- www.lipidworld.com
- www.thelancet.com

1.12. Metabolismo lipídico tisular

Antonio Sánchez Pozo ■ María de los Ángeles Ortega de la Torre

Capítulo 1.12.

Metabolismo lipídico tisular

1. Introducción

2. Panorámica del metabolismo lipídico

3. Metabolismo de los triglicéridos
- 3.1. Metabolismo intestinal y hepático
- 3.2. Metabolismo plasmático
- 3.3. Metabolismo en el tejido adiposo
- 3.4. Regulación del metabolismo en el tejido adiposo
- 3.5. Metabolismo del tejido adiposo marrón
- 3.6. Alteraciones del metabolismo de triglicéridos: obesidad

4. Metabolismo de ácidos grasos
- 4.1. Oxidación mitocondrial de ácidos grasos
- 4.2. Oxidación microsomal
- 4.3. Oxidación en los peroxisomas
- 4.4. Metabolismo de cuerpos cetónicos
- 4.5. Síntesis de ácidos grasos
- 4.6. Regulación del metabolismo de ácidos grasos

5. Metabolismo de fosfolípidos, esfingolípidos y otros lípidos de membrana
- 5.1. Biosíntesis de fosfolípidos, plasmalógenos y esfingolípidos
- 5.2. Degradación de lípidos de membrana en los lisosomas

6. Metabolismo del colesterol
- 6.1. Síntesis de colesterol
- 6.2. Transformación en sales biliares
- 6.3. Transformación en hormonas esteroideas

7. Resumen

8. Bibliografía

9. Enlaces web

Objetivos

- Identificar los procesos metabólicos de los lípidos que tienen lugar en los diferentes tejidos y sus interrelaciones.
- Explicar el significado, características y control de los procesos de almacenamiento y movilización de triglicéridos en el tejido adiposo.
- Explicar el papel del tejido adiposo marrón.
- Describir los procesos mediante los cuales se utilizan los ácidos grasos para obtener energía y explicar el papel de las mitocondrias y los peroxisomas.
- Explicar el origen, destino y papel de los cuerpos cetónicos.
- Describir los procesos de síntesis de ácidos grasos y su regulación, así como las limitaciones de los mismos.
- Describir los procesos de síntesis de los lípidos de membrana y su degradación, así como explicar el papel de los lisosomas.
- Describir las transformaciones del colesterol en sales biliares y hormonas derivadas y los factores que las regulan.
- Explicar el origen de la obesidad y de otras patologías, así como el significado de las determinaciones analíticas.
- Explicar el efecto de nutrientes específicos sobre el metabolismo de los lípidos.

1. Introducción

El conocimiento de los procesos de síntesis y degradación de lípidos es un Capítulo de gran interés en la nutrición y en la clínica. El metabolismo de los triglicéridos y su relación con la obesidad, así como el metabolismo del colesterol y su relación con la aterosclerosis, son dos aspectos de enorme preocupación social que pueden, en buena medida, controlarse nutricionalmente.

Tras ellos, existe toda una serie de aspectos metabólicos relativos a otros lípidos de enorme interés, aunque eclipsados por los primeros. Así, por ejemplo, el metabolismo de los ácidos grasos ofrece también buenas oportunidades de intervención nutricional, ante carencias de elementos clave como la carnitina, los ácidos grasos esenciales, etc. El panorama se amplía si se fija la atención en los peroxisomas y en el metabolismo de ácidos grasos raros, pero presentes en la dieta.

Hay más aspectos de interés. Si uno se fija en los cuerpos cetónicos, éstos sirven como combustibles alternativos en situaciones especiales, aunque se relacionen más frecuentemente con estados de acidosis metabólica.

El estudio de la síntesis y degradación de fosfolípidos y esfingolípidos, aunque más complejo, resulta muy interesante para conocer mejor el papel de los lisosomas, implicados también en el metabolismo de las lipoproteínas. Es también de gran valor para el área de la nutrición del neonato, con relación a, por ejemplo, la formación de surfactante pulmonar o el desarrollo neurológico.

Finalmente, el estudio de las transformaciones del colesterol en sales biliares y en derivados hormonales conforma un Capítulo del máximo interés tanto en nutrición como, fundamentalmente, en clínica.

En este Capítulo se presenta una visión resumida del metabolismo de todos estos lípidos y de los tejidos en los que ocurren. Se ha separado del metabolismo de las lipoproteínas (*ver Capítulo 1.11*), aunque algunos aspectos podrían contemplarse en cualquiera de los dos capítulos. En cada uno de los dos capítulo se han enfatizado aquellos detalles que se considera relevantes para su mejor comprensión.

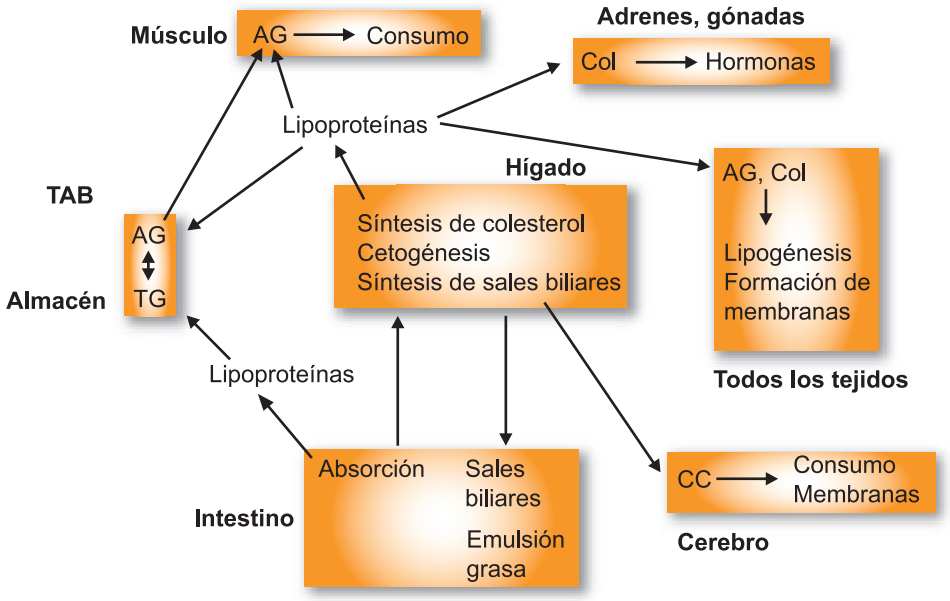


Figura 1. *Panorama del metabolismo lipídico. AG: ácidos grasos; TG: triglicéridos; TAB: tejido adiposo blanco; Col: colesterol; CC: cuerpos cetónicos.*

2. Panorámica del metabolismo lipídico

En la **Figura 1** se muestra una visión panorámica de los aspectos metabólicos de mayor relevancia y los tejidos en los que ocurren. La primera impresión a la vista del esquema es de complejidad, pero se simplifica si se consideran tres grandes bloques: el energético, el estructural y el funcional.

Por lo que respecta al **bloque energético**, los elementos clave son los ácidos grasos. Los ácidos grasos son usados para obtener energía en la mayoría de los tejidos (principalmente, por el músculo), aunque hay excepciones como los eritrocitos. En el caso del cerebro no se usan tampoco los ácidos grasos, aunque se pueden usar los cuerpos cetónicos derivados de los ácidos grasos, en circunstancias especiales, como se verá más adelante.

Los ácidos grasos no consumidos o el exceso de azúcares se almacenan en el tejido adiposo como ésteres de ácidos grasos, esto es, como triglicéridos. En el primer caso, directamente; en el segundo, previa transformación de los azúcares en ácidos grasos. El resultado es la conservación del exceso de energía. Como se describe más adelante, el tejido adiposo es el almacén energético del organismo, frente al de glucógeno de menor cuantía. En todo caso, es importante recordar que la transformación de ácidos grasos en azúcares no es posible. Este hecho se debe a que los carbonos procedentes de los ácidos grasos se pierden como CO_2 en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos.

El **bloque estructural** se refiere básicamente a la formación de membranas. Los ácidos grasos, junto con alcoholes diversos, forman en los distintos tejidos fosfolípidos y otros lípidos de membrana según sus necesidades. Mención aparte requiere el colesterol. Es aportado a los tejidos por el hígado, aunque se puede sintetizar en cualquier tejido.

El **bloque funcional** se refiere básicamente a las transformaciones del colesterol en sales biliares, que actúan emulsionando la grasa para su absorción, y los derivados hormonales. Entre estos últimos, los más significativos son las hormonas de las glándulas suprarrenales (cortisol y aldosterona) y las hormonas sexuales producidas en las gónadas (*ver Capítulo 1.4*), aunque no se debe olvidar la vitamina D (*ver Capítulo 1.24*).

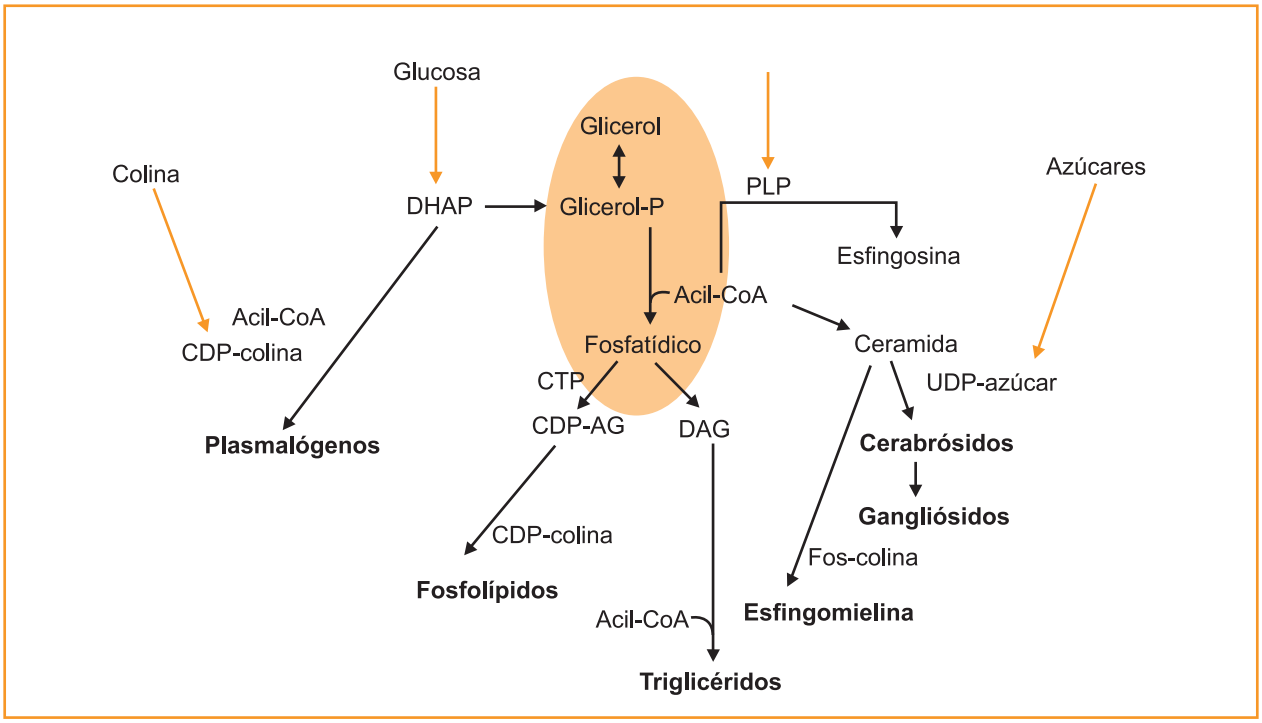


Figura 2. *Biosíntesis de lípidos de membrana. Se han incluido los triglicéridos, aunque no son genuinamente lípidos constitutivos de membrana. Se han destacado con flechas naranjas las fuentes de origen dietético. CDP: citidina difosfato; CTP: citidina trifosfato; DAG: diacilglicerol; DHAP: dihidroxiacetona fosfato; UDP: uridina difosfato; PLP: piridoxal fosfato; Fos-colina: fosfatidil colina.*

En el esquema de la **Figura 1** puede observarse la existencia de varias interrelaciones metabólicas entre los distintos tejidos, y se deduce que el hígado juega un papel central. Como se indica, es el lugar principal de síntesis de colesterol, el único que forma cuerpos cetónicos y sales biliares y, aunque no se indica, es el lugar donde se forman más ácidos grasos.

Los aspectos relacionados con los movimientos de lípidos entre tejidos se estudian en el Capítulo 1.11, aunque, como puede observarse, no pueden separarse totalmente del metabolismo tisular.

3. Metabolismo de los triglicéridos

La mayor parte de los ácidos grasos del cuerpo humano se encuentra en forma de triglicéridos. Los triglicéridos, también llamados grasas neutras, son ésteres de glicerol sin carga eléctrica, y su función es actuar como depósitos de energía altamente concentrada. En los triglicéridos, los tres grupos hidroxilo del glicerol están esterificados con un ácido graso.

La distribución y composición de los ácidos grasos que ocupan las diferentes posiciones del glicerol en un momento dado, depende de muchos factores, entre los que se encuentran la dieta y la localización anatómica del triglicérido.

La síntesis de triglicéridos tiene lugar fundamentalmente en el intestino, hígado y tejido adiposo. En todos los tejidos, el punto de partida para la síntesis es el ácido fosfatídico, un intermediario metabólico originado de la unión del glicerol-fosfato con un ácido graso. El ácido fosfatídico, por la acción de la sintetasa, pierde el fosfato e incorpora otros ácidos grasos para originar diacilgliceroles o triacilgliceroles (triglicéridos) **(Figura 2)**.

El intestino y el hígado sintetizan triglicéridos para la exportación a otros tejidos, mientras que el tejido adiposo sintetiza triglicéridos como almacén. Por tanto, los triglicéridos que se encuentran en el plasma proceden tanto del hígado como del intestino y nunca del tejido adiposo.

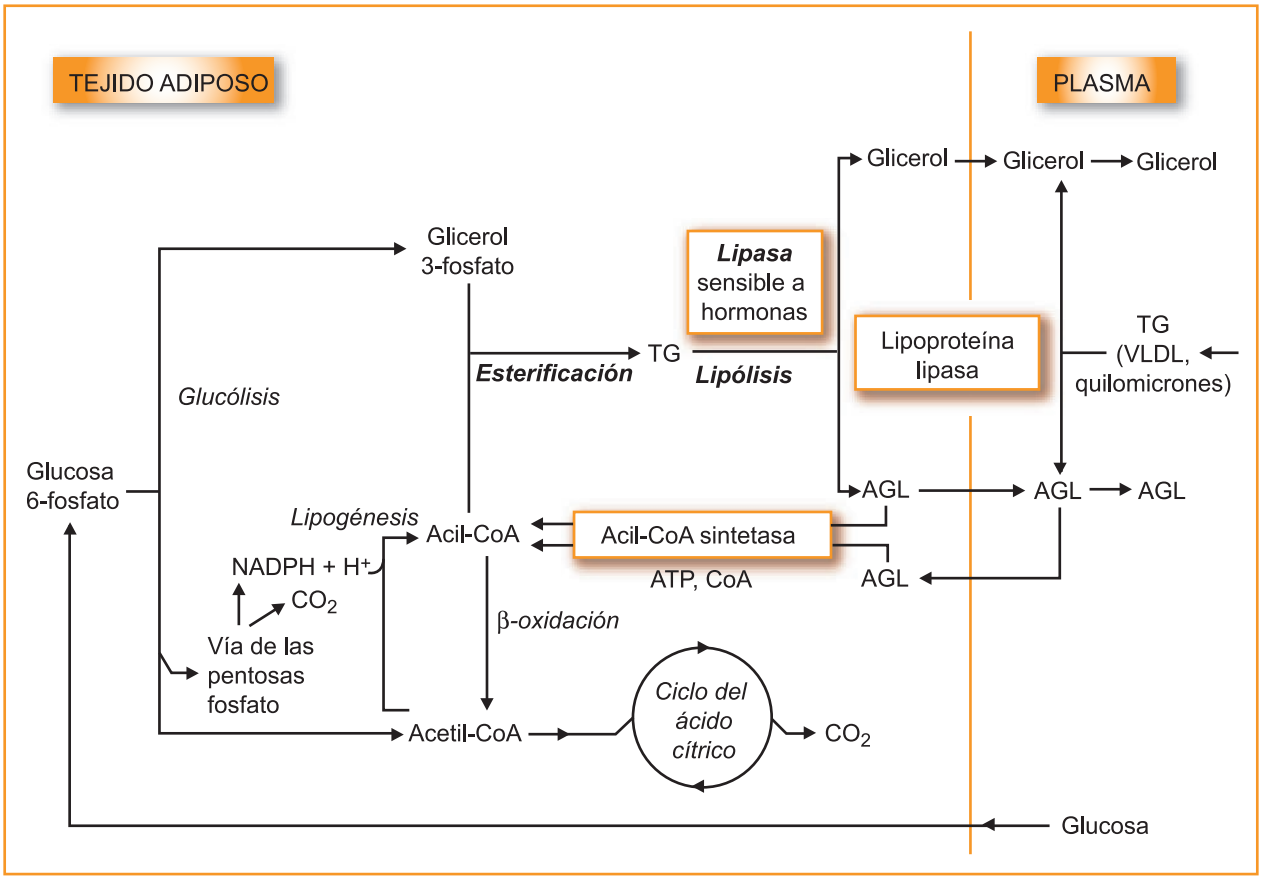


Figura 3. *Metabolismo de lípidos en el tejido adiposo. TG: triglicéridos; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad; AGL: ácidos grasos libres; CoA: coenzima A.*

3.1. Metabolismo intestinal y hepático

En el intestino tiene lugar la síntesis de triglicéridos a partir de los ácidos grasos procedentes de la hidrólisis de los triglicéridos ingeridos. Así, los triglicéridos de la dieta se separan en el lumen intestinal en sus componentes para volverse a unir en el enterocito. No es un gasto inútil -como podría pensarse a primera vista-, ya que los triglicéridos no pueden absorberse mientras que los ácidos grasos y el glicerol sí. En otras palabras, la hidrólisis y posterior resíntesis de los triglicéridos hace posible su absorción (*ver Capítulo 1.8*).

En el hígado tiene lugar la síntesis de triglicéridos a partir de los ácidos grasos sintetizados *de novo*. En gran medida, la síntesis tiene lugar a partir de intermediarios del metabolismo de los glúcidos (*ver Capítulo 1.9*). Así, el exceso de glucosa que se produce tras la comida se utiliza para la síntesis de triglicéridos, que se exportan para su uso por los tejidos periféricos.

3.2. Metabolismo plasmático

Los triglicéridos son rápidamente eliminados de la circulación por la acción de la lipoproteína lipasa de los endotelios vasculares (*ver Capítulo 1.11*). La lipoproteína lipasa cataliza la degradación del triglicérido de forma progresiva, pasando por intermediarios de diacilglicerol y monoacilglicerol, transformándolo finalmente en ácidos grasos libres y glicerol. Algunos de los ácidos grasos quedan en la circulación, donde se transportarán unidos a albúmina, pero la mayoría son incorporados a los tejidos **(Figura 3)**.

La velocidad de eliminación de los triglicéridos plasmáticos oscila desde unos minutos en animales pequeños (rata) a menos de una hora en humanos, y en experimentos de administración intrave-

nosa de lípidos marcados se ha comprobado que sus ácidos grasos se distribuyen en un 80% en el tejido adiposo, corazón y músculo, y el 20% restante en el hígado.

3.3. Metabolismo en el tejido adiposo

En los mamíferos, el centro principal de acumulación de triglicéridos es el citoplasma de las células adiposas (células grasas o adipocitos). En ellas, las gotitas de triglicérido se unen para formar un gran glóbulo que puede ocupar casi todo el volumen celular. Las células adiposas están especializadas en la síntesis y almacenamiento de triglicéridos y en su hidrólisis y movilización como moléculas combustibles que serán transportadas por la sangre a otros tejidos.

El tamaño de los depósitos de grasa varía, pero en los individuos no obesos constituye cerca del 10% del peso corporal, y no son masas inertes, sino tejidos dinámicos, que experimentan una continua degradación y resíntesis. En esos depósitos de grasas neutras, la glucosa es transformada en ácidos grasos, que serán utilizados para la síntesis de triglicéridos. Estas grasas también pueden ser degradadas (lipólisis), liberándose ácidos grasos libres que pasarán a la circulación.

La naturaleza hidrófoba de los triglicéridos y su estado altamente reducido los hacen compuestos eficientes para el almacenamiento de energía, en comparación con otras moléculas como el glucógeno. Los triglicéridos son depósitos de energía metabólica muy concentrada, puesto que están en forma reducida y anhidra. El rendimiento de la oxidación completa de sus ácidos grasos es de alrededor de 9 kcal/g, a diferencia de las aproximadamente 4 kcal/g que se obtienen de los hidratos de carbono y las proteínas. La base de esta gran diferencia en la liberación de calorías es que los ácidos grasos están más fuertemente reducidos.

Además, los triglicéridos son muy apolares y por ello se almacenan en una forma casi anhidra, mientras que las proteínas y los hidratos de carbono son mucho más polares y, por tanto, están hidratados en mayor grado. De hecho, 1 gramo de glucógeno seco retiene alrededor de 2 gramos de agua. En consecuencia, 1 gramo de grasa prácticamente anhidra acumula más de 6 veces más energía que 1 gramo de glucógeno hidratado, y por esta razón los triglicéridos fueron seleccionados en lugar del glucógeno durante la evolución como el principal reservorio de energía.

De esta forma, si se considera un hombre de 70 kg de peso, la reserva de energía en forma de triglicéridos constituye alrededor de 11 kg de su peso corporal total. Si esta cantidad de energía fuera almacenada como glucógeno, el peso del cuerpo sería 55 kg mayor. Además, se estima que las reservas de combustible son de 100.000 kcal en los triglicéridos, 25.000 kcal en las proteínas (localizadas principalmente en el músculo), 600 kcal en el glucógeno y 40 kcal en glucosa. Ello representaría una cantidad escasamente suficiente para mantener las funciones corporales durante 24 horas de ayuno, si sólo se contase con la energía obtenida a partir de los glúcidos como glucógeno hepático y muscular. En cambio, la reserva normal de grasa suministra energía suficiente para sobrevivir durante varias semanas de ayuno.

En el tejido adiposo, los triglicéridos son sintetizados a partir de acil-CoA, y glicerol-3-fosfato **(Figura 3)**. Dado que la enzima glicerol kinasa se expresa en poca cantidad en el tejido adiposo, el glicerol directamente obtenido en la lipólisis no puede ser usado en la esterificación para la formación de triglicéridos. El aporte del glicerol-3-fosfato se realiza a través de la vía de glucólisis, gracias al aporte de glucosa, que es transportada al interior del tejido. La glucosa incorporada al tejido adiposo puede seguir varias vías: oxidación a CO_2 a través del ciclo del ácido cítrico, oxidación en la vía de las pentosas-fosfato, conversión a ácidos grasos de cadena larga, y formación de acilglicerol a partir del glicerol-3-fosfato.

Los ácidos grasos liberados en la lipólisis, los de nueva síntesis y los incorporados al tejido pueden ser reutilizados en el tejido adiposo mediante su conversión a acil-CoA por acción de la acil-CoA sintetasa, y esterificados con el glicerol-3-fosfato para formar triglicéridos, estableciéndose así un continuo ciclo de lipólisis y de reesterificación en el tejido adiposo.

En el tejido adiposo, los triglicéridos son hidrolizados hasta ácidos grasos y glicerol **(Figura 3)**. El primer paso para la utilización de la grasa como fuente de energía implica la hidrólisis del triglicérido por la llamada lipasa sensible a hormonas, liberándose ácidos grasos libres y glicerol. Esta lipasa

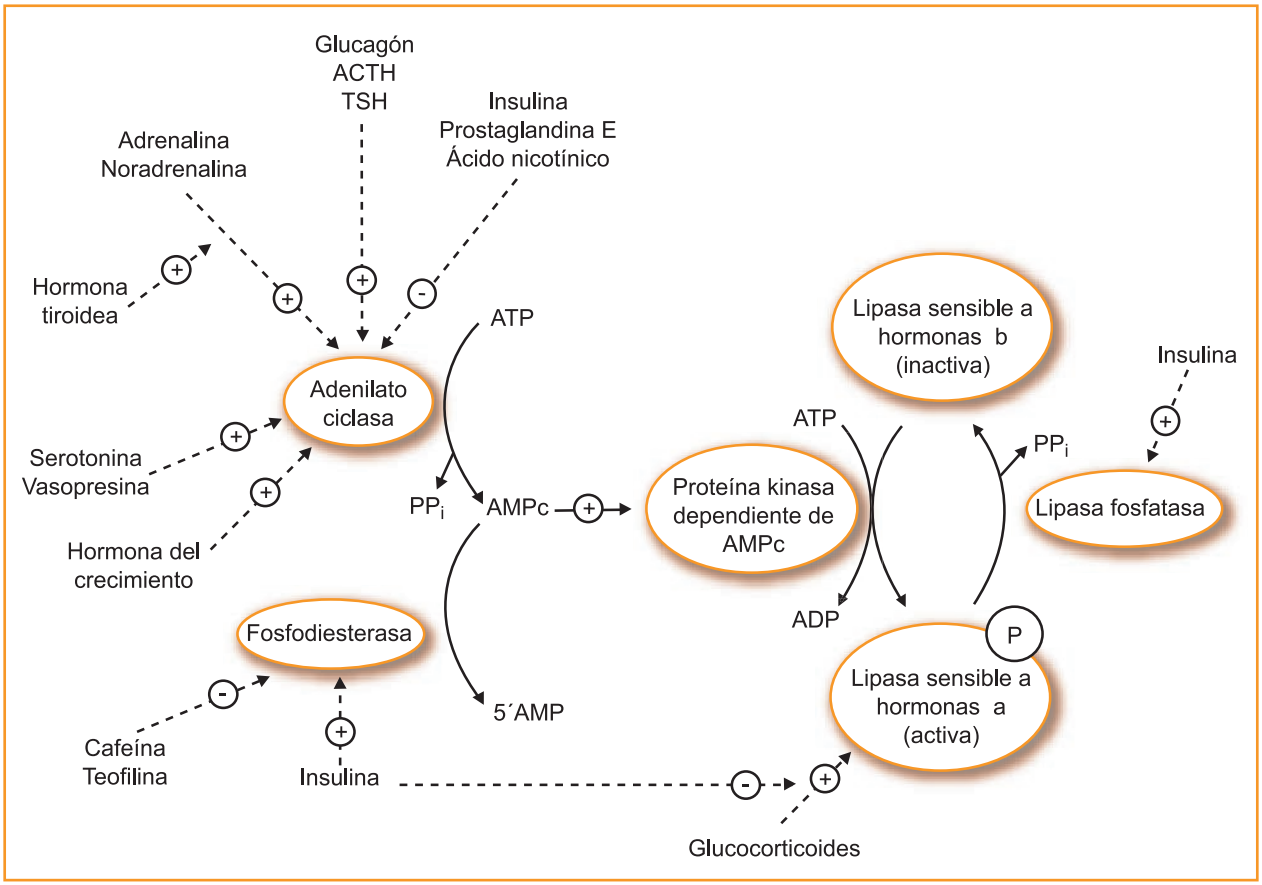


Figura 4. *Regulación de la lipasa sensible a hormonas. ACTH: hormona adrenocorticotropa; TSH: tirotropina; PPi: pirofosfato.*

es diferente de la lipoproteína lipasa encargada de catalizar la hidrólisis de los triglicéridos antes de su incorporación a los tejidos.

El glicerol formado en la lipólisis no puede ser utilizado en el tejido adiposo, por carecer éste de la enzima glicerol kinasa, por lo que difundirá hacia el plasma, y será transportado a otros tejidos donde pueda ser usado. En los tejidos que dispongan de las enzimas necesarias, como es el caso del hígado, el glicerol se fosforila y oxida a dihidroxiacetona fosfato, que a su vez se isomeriza a gliceraldehído-3-fosfato. Este compuesto intermediario se halla tanto en la vía glicolítica como en la gluconeogénica.

Los ácidos grasos liberados por el tejido adiposo en la lipólisis pueden ser utilizados por el mismo tejido como fuente de energía. Dichos ácidos grasos también pueden ser reesterificados para la obtención de nuevos triglicéridos, o bien pueden acumularse y difundir al plasma, unidos a albúmina, para actuar como fuente de energía en otros muchos tejidos.

3.4. Regulación del metabolismo en el tejido adiposo

El aporte de ácidos grasos libres a los tejidos como consecuencia de la hidrólisis de triglicéridos está regulado por dos lipasas: la lipoproteína lipasa y la lipasa sensible a hormonas.

La lipoproteína lipasa de la superficie de los capilares hidroliza los triglicéridos de los quilomicrones y de las VLDL, produciendo glicerol y ácidos grasos libres que pueden ser reensamblados en nuevos triglicéridos en las células adiposas. La lipasa sensible a hormonas del tejido adiposo cataliza el desdoblamiento de los triglicéridos almacenados en glicerol y ácidos grasos, que pueden pasar posteriormente a la circulación **(Figura 3)**.

La enzima responde a numerosas señales **(Figura 4)**. La insulina produce su inactivación por defosforilación. Por el contrario, la activación se produce por diversas señales que conducen a un aumento de AMPc. Las más importantes son las catecolaminas, la hormona del crecimiento, la serotonina y el glucagón. Se puede decir que la enzima se activa cuando el organismo necesita o cree que va a necesitar combustibles energéticos y se inactiva cuando le consta que tiene combustibles suficientes.

La lipasa sensible a hormonas es convertida de una forma inactiva (forma b) en activa (forma a) por el AMPc mediante una proteína kinasa que es dependiente de AMPc. La adrenalina, noradrenalina, glucagón, la hormona adenocorticotrópica (ACTH) y la hormona estimulante tiroidea (TSH) producen lipólisis, ya que son capaces de estimular la adenilato ciclasa de las células adiposas mediante la activación de sus receptores.

El nivel incrementado de AMPc, que se puede considerar como un mensajero en la regulación de la lipólisis en las células adiposas, estimula entonces a la proteína kinasa dependiente de AMPc, la cual activa a la lipasa sensible a hormonas por fosforilación. La liberación de noradrenalina en el tejido adiposo, además, tiene especial importancia en la movilización de los ácidos grasos.

La serotonina, vasopresina, la hormona de crecimiento y la hormona tiroidea también incrementan la lipólisis por medio del AMPc. Los glucocorticoides también incrementan la lipólisis, pero por una vía independiente del AMPc, que puede ser inhibida por la insulina, ejerciendo una acción directa sobre la actividad de la lipasa sensible a las hormonas.

Otras hormonas, por el contrario, inhiben la lipólisis. Así, por ejemplo, la insulina, la prostaglandina E y el ácido nicotínico disminuyen la actividad de la lipasa sensible a hormonas, posiblemente inhibiendo la formación de AMPc, por acción sobre la adenilato ciclasa.

La insulina también inhibe la lipólisis por otras vías: por una parte, estimula la lipasa fosfatasa que inactiva la lipasa sensible a hormonas y, por otra parte, estimula la fosfodiesterasa encargada de pasar el AMPc a 5'AMP, produciendo una disminución en la concentración de AMPc. Esta fosfodiesterasa, por el contrario, se ve inhibida por metilxantinas tales como cafeína y teofilina.

Además, se ha descrito que la insulina incrementa la actividad de la piruvato deshidrogenasa, acetil-CoA carboxilasa y glicerol fosfato aciltransferasa, lo que explicaría que un incremento en la utilización de glucosa por el tejido ocasione un aumento en la síntesis de ácidos grasos y de acilglicerol. Así pues, la insulina inhibe la liberación de ácidos grasos libres del tejido adiposo, favorece la lipogénesis y la síntesis de acilglicerol, e incrementa la oxidación de la glucosa a CO_2 a través de la vía de las pentosas fosfato.

De esta regulación hormonal se deduce que la actividad de la lipasa sensible a hormonas se vea incrementada por el ayuno y el estrés, y disminuida por la alimentación y la insulina.

Por el contrario, la actividad de la lipoproteína lipasa está incrementada por la alimentación, y disminuida por el ayuno y el estrés. Además, en el tejido adiposo, la insulina incrementa la síntesis de la lipoproteína lipasa, y su traslocación a la superficie luminal del endotelio capilar (*ver Capítulo 1.11*).

Dado que el metabolismo de los ácidos grasos y de los triglicéridos es tan importante para el correcto funcionamiento del cuerpo humano, los desequilibrios y deficiencias en estos procesos pueden producir consecuencias patológicas importantes. Entre las enfermedades del metabolismo de los ácidos grasos y de los triglicéridos se encuentran la obesidad, la diabetes, la cetoacidosis y los errores del transporte de lípidos en la sangre.

3.5. Metabolismo del tejido adiposo marrón

Otro tipo de depósitos es la denominada grasa parda o lo que se conoce como el tejido adiposo marrón. Representa un pequeño porcentaje de la grasa corporal total. La denominación de marrón o pardo se debe a la existencia de muchas mitocondrias, que le dan ese aspecto.

El tejido adiposo marrón es abundante en lactantes, pero también está presente en los adultos. Se encuentra entre los omóplatos, a nivel de la nuca, a lo largo de los grandes vasos del tórax, en el abdomen y otras localizaciones diseminadas del cuerpo.

A diferencia del tejido adiposo blanco tiene una inervación específica. Así, en el tejido adiposo blanco sólo los vasos sanguíneos tienen inervación simpática, pero en los depósitos de grasa parda, las propias células grasas, al igual que los vasos sanguíneos,

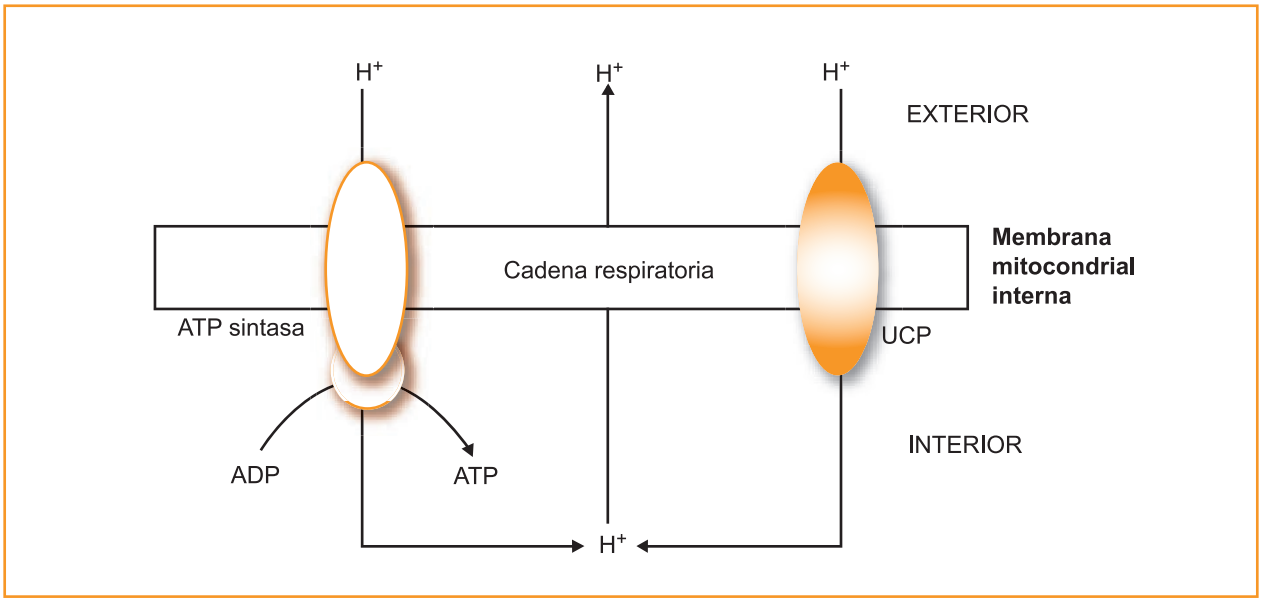


Figura 5. *Mecanismos implicados en la generación de calor en la mitocondria. Nótese que el flujo de protones a través de la UCP compite con el que tiene lugar a través de la ATP sintasa. UCP: proteína desacopladora (***UnCoupling Protein***).*

están inervadas muy ampliamente por fibras nerviosas simpáticas.

La estimulación de la inervación simpática del tejido adiposo marrón descarga noradrenalina, que favorece la lipólisis, aumenta la síntesis de lipoproteína lipasa encargada de utilizar los triglicéridos de las lipoproteínas circulantes, y aumenta la oxidación de la grasa en las mitocondrias.

El aumento de la oxidación de los ácidos grasos en las mitocondrias no se traduce en obtención de energía en forma de ATP, sino en la producción de calor. De ahí que juegue un papel importante en los lactantes para defenderse del frío.

La base de este comportamiento radica en la existencia en estas células de una proteína denominada UCP (***UnCoupling Protein***), que reduce o anula la síntesis de ATP **(Figura 5)**. Esta proteína rompe el gradiente de protones que se genera en la mitocondria y que utiliza la ATP sintasa para generar ATP. La energía del transporte electrónico se disipa como calor (*ver Capítulo 1.2*).

3.6. Alteraciones del metabolismo de triglicéridos: obesidad

En los obesos existe un exceso de grasa corporal. Se dice que una persona es obesa cuando la relación entre su altura y su peso corporal (índice de masa corporal o de Quetelet) es superior a 30 kg/m^2. El peso de una persona depende del balance energético, manteniéndose estable mientras el gasto energético se equilibre con la ingesta energética. Los pequeños desequilibrios suelen compensarse aumentando el gasto. Sólo cuando el desequilibrio es importante, el exceso energético se acumulará como grasa. La etiología es de naturaleza multifactorial.

En animales de experimentación se han caracterizado los genes *ob* y *fa* responsables de un síndrome de obesidad que se transmite de forma mendeliana simple.

En los humanos, la influencia genética es importante, aunque los estudios realizados no permiten establecer un patrón de herencia relacionado con estos dos genes, lo que sugiere la existencia de otros.

En animales de experimentación la disminución de la producción de calor es un factor etiológico de la obesidad. La producción de calor tiene lugar fundamentalmente por ciclos metabólicos improductivos como el descrito en tejido adiposo marrón u otros en los que, como en la fosforilación de la fructosa 6-fosfato a fructosa 1,6-bisfosfato y la hidrólisis de ésta a fructosa 6-fosfato, se gasta ATP inútilmente.

Tabla 1. ALTERACIONES PATOLÓGICAS DE LA β-OXIDACIÓN

Deficiencia	Características
Transportador de carnitina	Hipoglucemia no cetótica, hepatomegalia, miocardiopatía, debilidad muscular
Carnitina-palmitoil transferasa 1	Hipoglucemia no cetótica, tubulopatía proximal
Carnitina-acilcarnitina translocasa	Hipoglucemia no cetótica, hepatomegalia, debilidad muscular, miocardiopatía, microcefalia, hipotensión
Carnitina-palmitoil transferasa 2	Mioglobinuria, hipertermia maligna, rabdomiólisis
Acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCAD)	Hipoglucemia no cetótica, hepatomegalia, miocardiopatía, debilidad muscular, taquicardia
Acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD)	Hipoglucemia no cetótica, hepatomegalia
Acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD)	Pérdida de masa muscular, acidosis metabólica
Proteína trifuncional de membrana	Hepatomegalia, neuropatía, rabdomiólisis
Múltiples acil-CoA deshidrogenasas	Dismorfia facial, riñón quístico

Las actividades de estos procesos están controladas por numerosas señales, entre las que se incluye el frío. Un buen ejemplo de su descontrol se aprecia en la hipertermia maligna. En los humanos, no está tan claro que exista una disminución de la producción de calor, que incluso puede ser mayor en los obesos que en los no obesos.

En las personas no obesas, la ingestión de comida por encima de unos límites está controlada, mientras que en los obesos no. Existen centros hipotalámicos que controlan el hambre y la saciedad. En estos centros se procesan numerosas señales: por una parte, los estímulos que llegan por el nervio vago, que recogen información del tracto gastrointestinal, y, por otra parte, señales sensoriales y, finalmente, señales como la insulina o la leptina.

La leptina o las catecolaminas activan, mientras que los glucocorticoides inhiben la liberación de corticoliberina, que es una señal de saciedad. De igual modo, la leptina y la insulina inhiben, y los glucocorticoides activan, la liberación de neuropéptido Y, que es una señal de hambre. En este sentido, el neuropéptido Y estimula la ingestión de azúcares y grasa. En los obesos del tipo Prader-Willi, estos sistemas están descontrolados.

En la mayoría de los obesos se observa resistencia insulínica, lo que favorece la lipogénesis y la acumulación de grasa. Por otra parte, se sabe que en algunos obesos existe una menor producción de leptina. La leptina es una proteína que se libera junto con otras como la resistina o la adiponectina por el tejido adiposo cuando el acúmulo de grasas es significativo. La leptina y la adiponectina juegan un papel importante en la resistencia a la insulina.

En los obesos es fácil encontrar numerosas interacciones hormonales que alteran la homeostasis energética, lo que ha dado lugar a la denominación de "síndrome metabólico".

Los factores indicados anteriormente son los que afectan directamente al metabolismo lipídico, lo cual no es más que una parte de los muchos factores que deben ser considerados para entender la obesidad (*ver Capítulos 1.18 y 4.18*).

4. Metabolismo de ácidos grasos

Los ácidos grasos dan lugar a muchos productos de interés, por lo que se sintetizan en todos los tejidos, como se verá más adelante. Pero, de momento, se estudia su utilización como fuente energética. Los ácidos grasos son combustibles como la glucosa, con la ventaja de proporcionar más energía, y se sintetizan cuando existe abundancia, de modo que puede pensarse en ellos como los genuinos indicadores del estado energético.

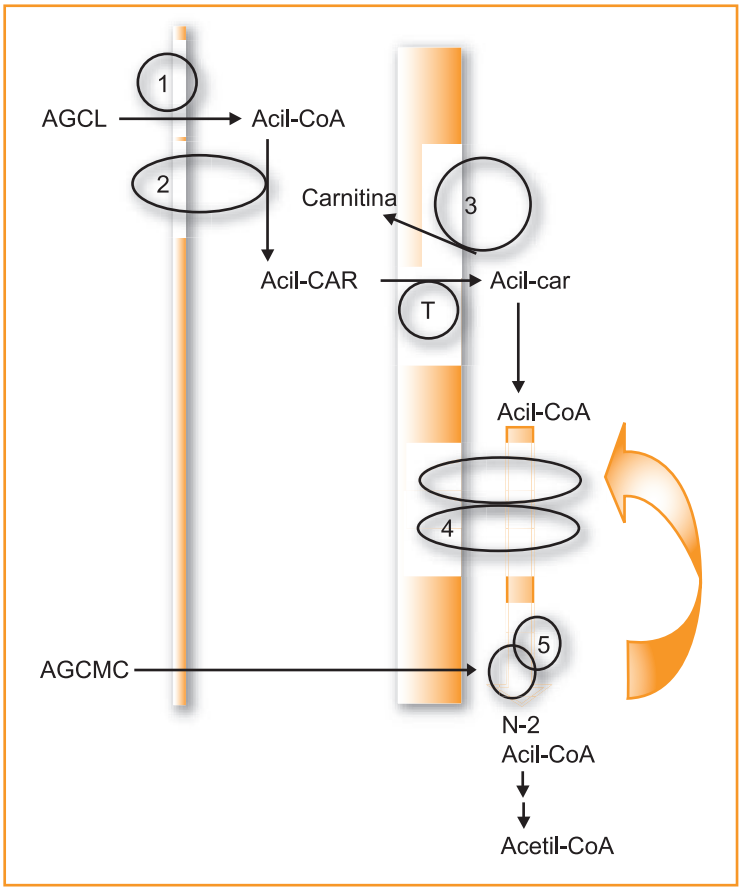


Figura 6. *Oxidación mitocondrial de los ácidos grasos. Las flechas indican que el proceso se repite varias veces hasta la oxidación completa del ácido graso. AGCL: ácido graso de cadena larga; AGCMC: ácido graso de cadena media y corta; acil-car: acil carnitina; acil-CoA: acil-coenzima A. Enzimas: 1: acil-CoA sintetasa; 2: carnitina palmitoil transferasa 1; 3: carnitina palmitoil transferasa 2; 4: sistema enzimático de la β-oxidación asociado a la membrana; 5: sistema enzimático de la β-oxidación soluble.*

4.1. Oxidación mitocondrial de ácidos grasos

La β-oxidación mitocondrial es el proceso mayoritario de oxidación y es fuente de energía para el músculo, principalmente durante el ejercicio prolongado, cuando escasea la glucosa. Por ello, se recomienda evitar el ayuno prolongado a los enfermos con trastornos en la β-oxidación **(Tabla 1)**.

En el hígado, la oxidación sirve para obtener energía para otros procesos como la gluconeogénesis y para producir cuerpos cetónicos, los cuales son exportados a los tejidos y consumidos cuando escasea la glucosa (principalmente cerebro).

El elemento clave en la regulación de la oxidación es la cantidad de malonil-CoA que controla la actividad del sistema de lanzadera de la carnitina y activa el proceso de síntesis (*ver más adelante*). Por otra parte, la existencia de abundancia de energía, cosa que se pone de manifiesto por la abundancia de NADH, inhibe a la tiolasa y otras enzimas de la oxidación.

Los ácidos grasos penetran en la mitocondria, siendo enlazados al coenzima A en la membrana mitocondrial externa **(Figura 6)**, lo que supone su activación. Una vez activados, son transportados como derivados de la carnitina hasta la parte interna de la membrana mitocondrial interna. Una vez allí, sufren el proceso de oxidación propiamente dicho. La incorporación de un grupo tiol facilita la posterior degradación, como se verá más adelante. De ahí que se hable de activación.

La carnitina es necesaria para la entrada de los ácidos grasos de más de 12 átomos de carbono, lo que explica el efecto beneficioso de su incorporación en la dieta. En los casos de deficiencia se suelen aportar 100 mg/kg/día. Los ácidos grasos de cadena inferior a 12 carbonos (denominados por muchos de cadena media y corta) no necesitan de la carnitina y, por ello, su aporte es recomendable a los pacientes con trastornos en la β-oxidación **(Tabla 1)**.

La carnitina entra en los tejidos gracias a un transportador denominado OCTN2. El transportador se encuentra en muchos tejidos y en el riñón. Su defecto, al anular la reabsorción de la carnitina, puede explicar los bajos niveles de carnitina en muchos pacientes con miocardiopatías.

La oxidación, denominada β-oxidación por tener lugar en el segundo carbono a contar desde el grupo carbonilo (carbono β), tiene lugar por la acción consecutiva de varias enzimas que primero provocan una deshidrogenación que conduce a la formación de un doble enlace, después una hidratación del doble enlace, originando un grupo hidroxilo, posteriormente otra deshidrogenación que genera un segundo grupo ceto y finalmente la

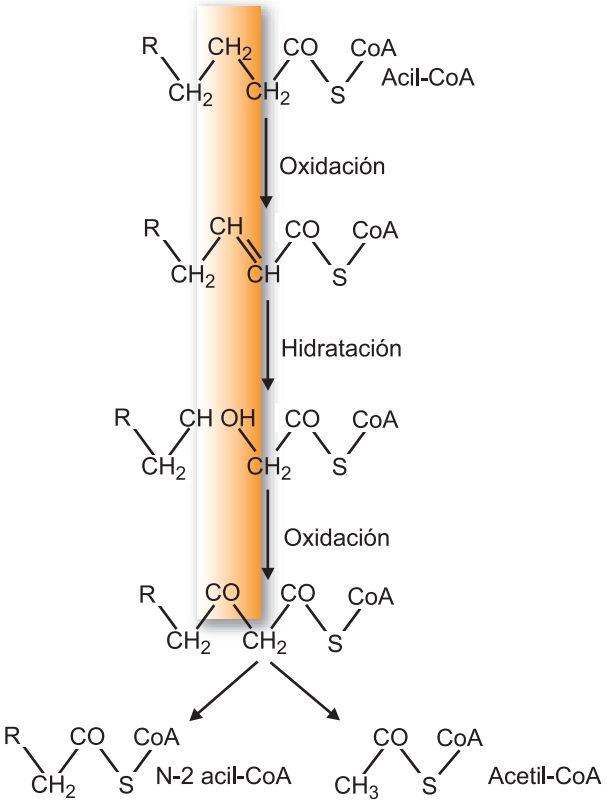


Figura 7. *Mecanismo de la β-oxidación de los ácidos grasos. Se destaca el carbono β, en el que tienen lugar las transformaciones (Figura 6).*

ruptura entre los dos grupos cetos continuos (tiólisis). El detalle de las reacciones se muestra en la **Figura 7**.

La deshidrogenación de los ácidos grasos de cadena larga se lleva a cabo por cuatro enzimas según el tamaño del ácido graso. El resto de las reacciones las ejecuta un complejo enzimático de membrana denominado "trifuncional". También existen las enzimas por separado en forma soluble, las cuales parecen actuar sobre los ácidos grasos de cadena media y corta, pero no sobre los de cadena larga.

El resultado de la β-oxidación es un ácido graso con dos átomos de carbono menos y una molécula de acetil-CoA. El proceso se repite hasta que finalmente todo el ácido graso es roto en unidades de acetil-CoA. En el caso de ácidos grasos de número impar de átomos de carbono el producto final es el malonil-CoA. La energía derivada del flujo electrónico se utiliza para la síntesis de ATP.

Los ácidos grasos insaturados sufren una serie de reacciones adicionales que permiten el movimiento de los dobles enlaces, de forma que sean atacables por las enzimas de la β-oxidación.

4.2. Oxidación microsomal

La oxidación mitocondrial es la principal, aunque también se oxidan ácidos grasos en los microsomas e incluso en el citoplasma celular. A diferencia de lo que ocurre en la mitocondria, aquí se produce la β-oxidación, esto es, la oxidación en el tercer carbono desde el carbonilo.

El resultado es una serie de ácidos di e hidroxicarboxílicos que terminan de oxidarse en los peroxisomas. Estos ácidos, entre los que se encuentra el ácido adípico, aparecen aumentados en plasma y orina cuando la β-oxidación está sobresaturada, como ocurre en ciertas patologías **(Tabla 1)**.

La sintomatología de las diferentes alteraciones está en función del nivel en que se encuentra bloqueada la vía metabólica y la toxicidad de los productos acumulados.

En condiciones de bloqueo de la β-oxidación también aumentan los conjugados de ácidos grasos: acilglicinas y acilcarnitinas). Este fenómeno se produce como consecuencia de la desacilación del coenzima A y posterior unión a glicina o carnitina. El proceso parece responder a la necesidad de disponer de coenzima A para otras funciones mitocondriales y que secuestra una β-oxidación inoperante.

4.3. Oxidación en los peroxisomas

Los peroxisomas son orgánulos subcelulares de forma esférica, rodeados de una única membrana, sin estructura interna y que contienen muchas enzimas hidrolíticas. Se encuentran presentes y de forma abundante en todos los tejidos sintetizadores de lípidos.

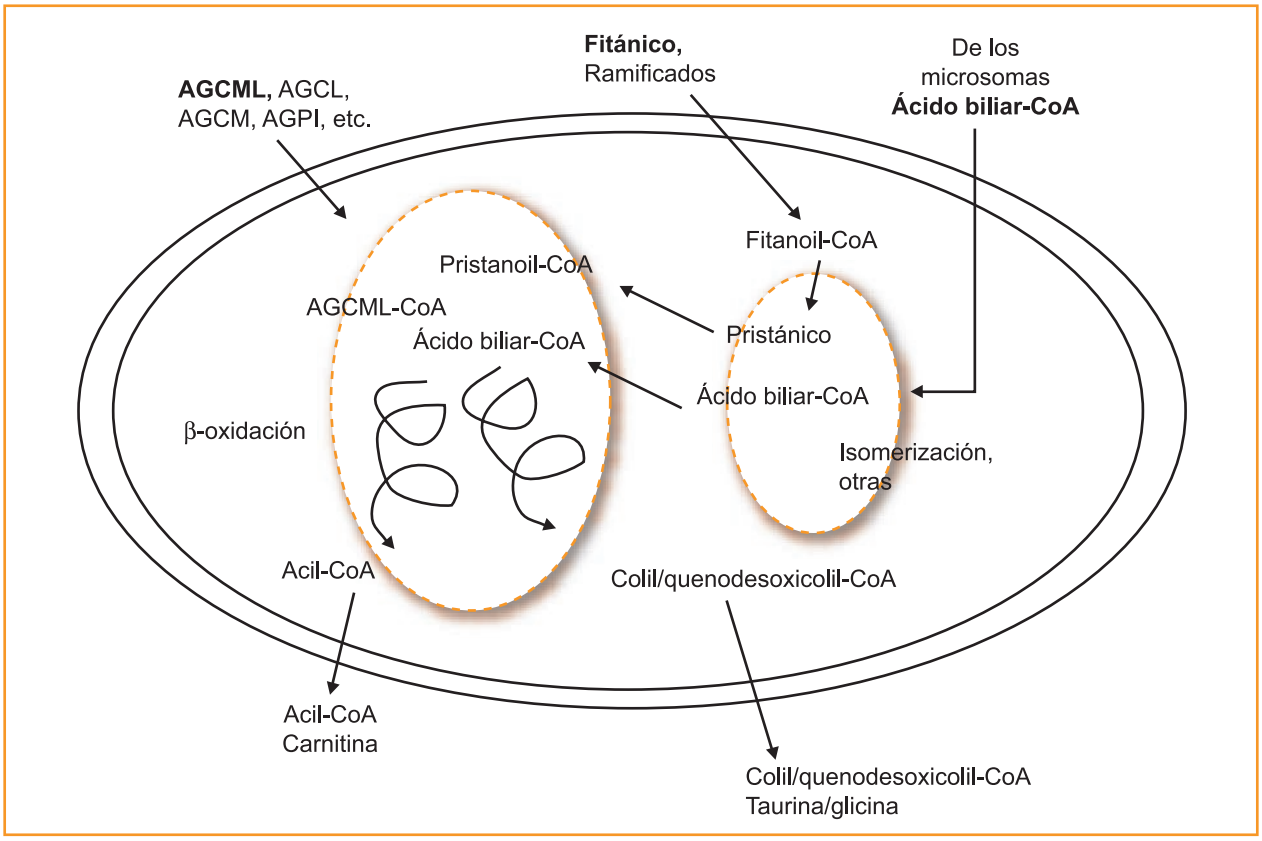


Figura 8. *Metabolismo de ácidos grasos en los peroxisomas. Se han destacado los sustratos principales. Se han enmarcado los procesos de oxidación y los de isomerización. AGCML: ácido graso de cadena media y larga; AGCL: ácido graso de cadena larga; AGCM: ácido graso de cadena media; AGPI: ácido graso poliinsaturado; CoA: coenzima A.*

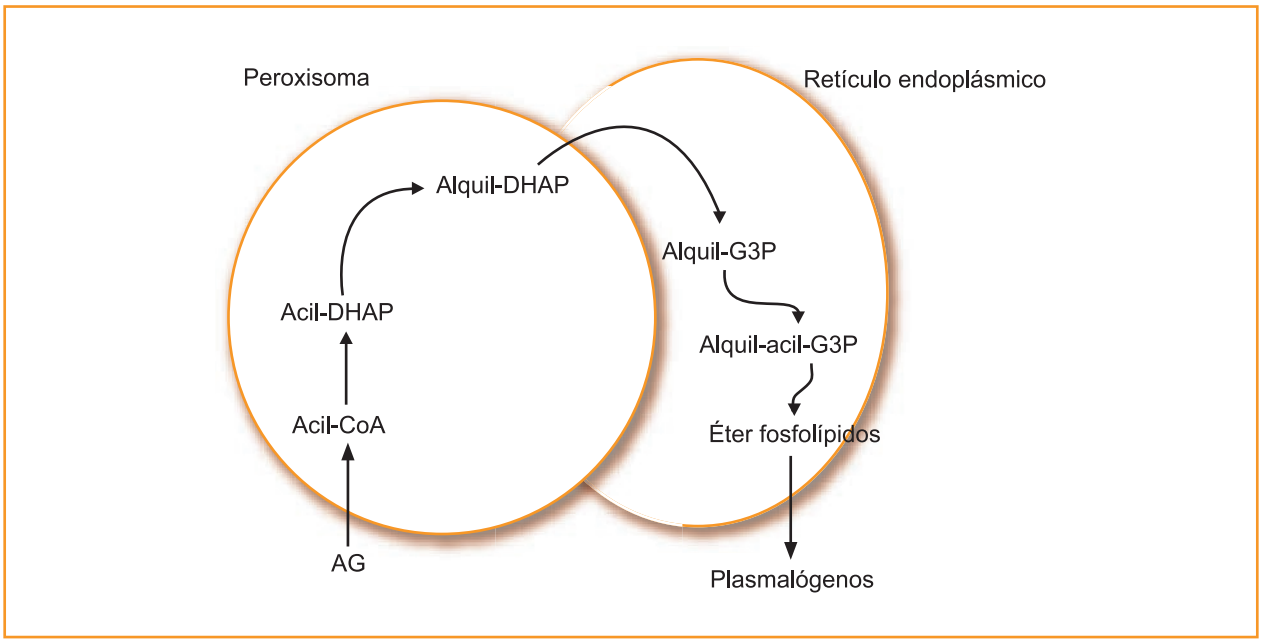


Figura 9. *Metabolismo de los plasmalógenos. AG: ácido graso; DHAP: dihidroxiacetona fosfato; G3P: gliceraldehído 3-fosfato.*

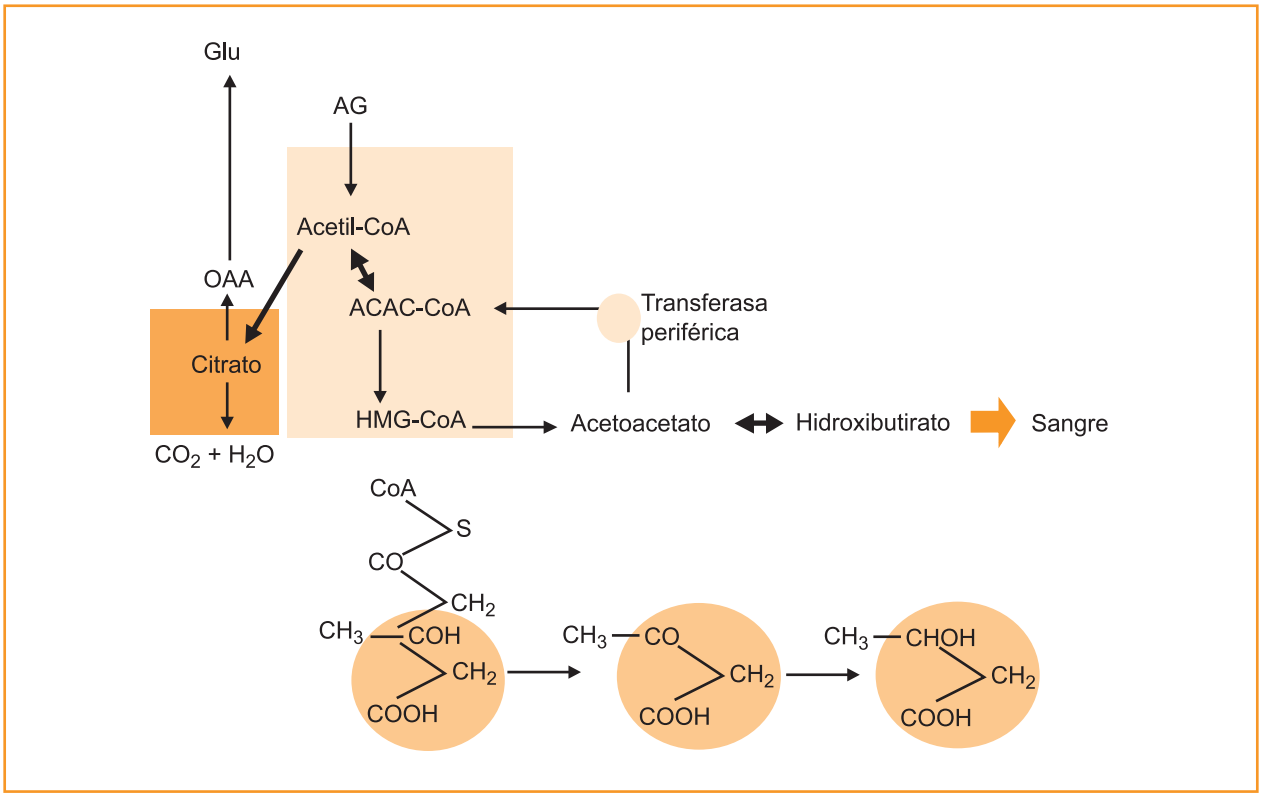


Figura 10. *Metabolismo de cuerpos cetónicos. Glu: glucosa; OAA: oxalacetato; AG: ácido graso; ACAC-CoA: acetoacetil coenzima A; HMG-CoA: hidroximetil-glutaril coenzima A.*

Los peroxisomas pueden oxidar ácidos grasos de cadena muy larga pero no los de cadena corta (normalmente menos de ocho carbonos), que tienen que ser transferidos a las mitocondrias para su oxidación **(Figura 8)**. Participan también en la oxidación de los ácidos grasos insaturados y poliinsaturados, y en la de las prostaglandinas y otros eicosanoides, así como los xenobióticos con cadenas acilo.

Por otra parte, es notable su capacidad para oxidar ácidos grasos ramificados como el ácido fitánico. Otra función importante es la formación de ácidos biliares por oxidación de la cadena lateral del colesterol, como si de un ácido graso se tratara.

El ácido fitánico es un ácido graso muy ramificado que procede exclusivamente de la dieta. Su metabolismo no es posible sin la previa conversión en ácido pristánico, que es una mezcla de isómeros que permite el inicio de la β-oxidación **(Figura 8)**. En la enfermedad de Refsun, el fitánico o el pristánico se encuentran en concentraciones elevadas en sangre, como consecuencia de un déficit enzimático del peroxisoma.

La β-oxidación tiene lugar por acortamiento de unidades de dos carbonos como en la mitocondria, pero existen notables diferencias. Así, no es necesaria la carnitina para la entrada de los ácidos grasos. La entrada de los ácidos grasos tiene lugar por proteínas de la familia denominada ABC (***A**TP **B**inding **C**assette*), en particular, la ABCD1. Se requieren enzimas específicas como la lignoceroil-CoA sintetasa en lugar de las acil-CoA sintetasas, o la oxidasa en la segunda etapa de la oxidación en lugar de la deshidrogenasa, entre otras.

A diferencia de la oxidación mitocondrial, la oxidación en los peroxisomas no genera ATP, sino que se disipa en forma de calor.

Otras de las funciones que ejerce el peroxisoma en el metabolismo de los lípidos es la síntesis de plasmalógenos **(Figura 9)**. Estos compuestos representan un porcentaje muy alto de los lípidos de membrana de tejidos eléctricamente activos, como el miocardio o el cerebro. Ello explica la relación entre

los trastornos peroxisómicos y las alteraciones neurológicas. El acetil-alquilgliceril fosforil colina se ha relacionado con la neutralización del oxígeno molecular. En general, se conocen poco sus funciones.

4.4. Metabolismo de cuerpos cetónicos

Los denominados cuerpos cetónicos son el acetoacetato y el hidroxibutirato. El nombre les viene de la transformación del acetoacetato en acetona de forma espontánea o inducido enzimáticamente. El olor característico de la acetona pone de manifiesto su presencia en la sangre, de la que se elimina al pasar por el pulmón y es un síntoma propio de aquellas circunstancias en las que se producen estos compuestos en gran cantidad.

Se sintetizan a partir de las unidades de dos carbonos (unidades acetilo), que se producen en la degradación de los ácidos grasos o de la oxidación de ciertos aminoácidos. Los aminoácidos cetogénicos son fenilalanina, tirosina, lisina, isoleucina y triptófano.

La cetogénesis ocurre cuando las unidades acetilo no pueden introducirse en el ciclo del ácido cítrico (ciclo de Krebs) **(Figura 10)**. En efecto, cuando escasea el oxalacetato, el acetil-CoA se deriva hacia hidroximetil glutaril coenzima A (HMG-CoA) y de éste a la formación de los cuerpos cetónicos.

Los cuerpos cetónicos se producen cuando la degradación de los ácidos grasos no puede completarse, bien porque la cantidad de ácidos grasos que se oxida es enorme o bien porque falte la glucosa. La falta de glucosa origina la disminución del oxalacetato, tanto porque no se sintetiza como porque se gasta para la gluconeogénesis. La falta de glucosa también pone en marcha la movilización de los ácidos grasos y su masiva degradación hasta acetil-CoA.

El hígado carece de la enzima capaz de transformar el acetoacetato en acetoacetil-CoA y, por tanto, el acetoacetato, o el hidroxibutirato que se forma por reducción, se escapan a la sangre. Por el contrario, los tejidos periféricos poseen la transferasa necesaria y pueden consumir estos cuerpos cetónicos, pero no la enzima HMG-CoA liasa necesaria para la formación. Por ello, puede decirse que los cuerpos cetónicos se producen en el hígado y se consumen en los tejidos periféricos.

Aunque el uso de los cuerpos cetónicos es energético, no hay que olvidar que los cuerpos cetónicos también sirven para la síntesis de ácidos grasos y colesterol. Este aspecto es de gran utilidad durante la etapa fetal.

El consumo es importante en el músculo esquelético y la corteza renal. El consumo de cuerpos cetónicos por el cerebro puede ser muy importante cuando escasea la glucosa. Normalmente, el cerebro utiliza la glucosa, pero en el ayuno prolongado o durante el periodo neonatal, el cerebro se adapta al consumo de cuerpos cetónicos.

Durante el ayuno prolongado, o como el que ocurre inmediatamente tras el nacimiento, se produce hipoglucemia como consecuencia del agotamiento del glucógeno. En los neonatos pretérmino y pequeños para la edad gestacional, donde las reservas de glucógeno son menores, la hipoglucemia puede ser fatal. Por ello, se movilizan los ácidos grasos del tejido adiposo, que sustituyen a la glucosa en todos aquellos tejidos capaces de utilizarlos. Éste no es el caso del cerebro, que no puede utilizar los ácidos grasos por carecer del equipo enzimático necesario.

El cerebro puede utilizar los cuerpos cetónicos como fuente energética sustitutoria de la glucosa. El cerebro del neonato posee una enzima exclusiva capaz de utilizar el acetoacetato con considerable ahorro de energía. La acetoacetil-CoA sintetasa citoplasmática permite utilizar el acetoacetato sin necesidad de recurrir a las enzimas mitocondriales, que requieren el doble de ATP. Por otra parte, al ser citoplasmática, se ahorra el gasto del transporte de acetilos para la utilización en los procesos biosintéticos. Ningún otro tejido posee esta capacidad. En el cerebro del adulto la cantidad de enzima puede llegar a ser insignificante.

Hay que mencionar que el hígado neonatal tiene bajos niveles de carnitina y que, por tanto, la oxidación de los ácidos grasos y la síntesis de los cuerpos cetónicos ocurre tras el aporte dietético. El periodo resulta crítico en el caso de neonatos con déficit de reservas energéticas, como los prematuros.

Como la inanición, la diabetes es otro buen ejemplo de circunstancias en las que aumentan los cuerpos cetónicos. En este caso, se trata de una "inanición en medio de la abundancia", ya que existe glucosa pero no es utilizable por los tejidos. En el caso de la diabetes, los cuerpos cetónicos suelen aparecer en los diabéticos del tipo I y en los diabéticos del tipo II sometidos a situaciones estresantes. El denomina-

dor común de ambas situaciones es la práctica ausencia de insulina. Mientras las concentraciones plasmáticas de insulina sean significativas, aunque sean bajas, la hormona detiene la lipólisis y, por tanto, la oxidación masiva de ácidos grasos.

En la diabetes la elevación plasmática puede ser enorme, lo que origina acidosis (denominada también cetoacidosis, para distinguirla de la originada por el ácido láctico). Como en todas las acidosis, se produce una compensación pulmonar que incrementa la expulsión de gases, entre los cuales se encuentra la acetona. La respiración forzada junto al olor a acetona son dos signos característicos. La determinación de cuerpos cetónicos en orina es de gran utilidad, aunque las tiras reactivas sólo detectan el hidroxibutirato. La cetoacidosis diabética debe ser corregida lo antes posible mediante la administración de insulina.

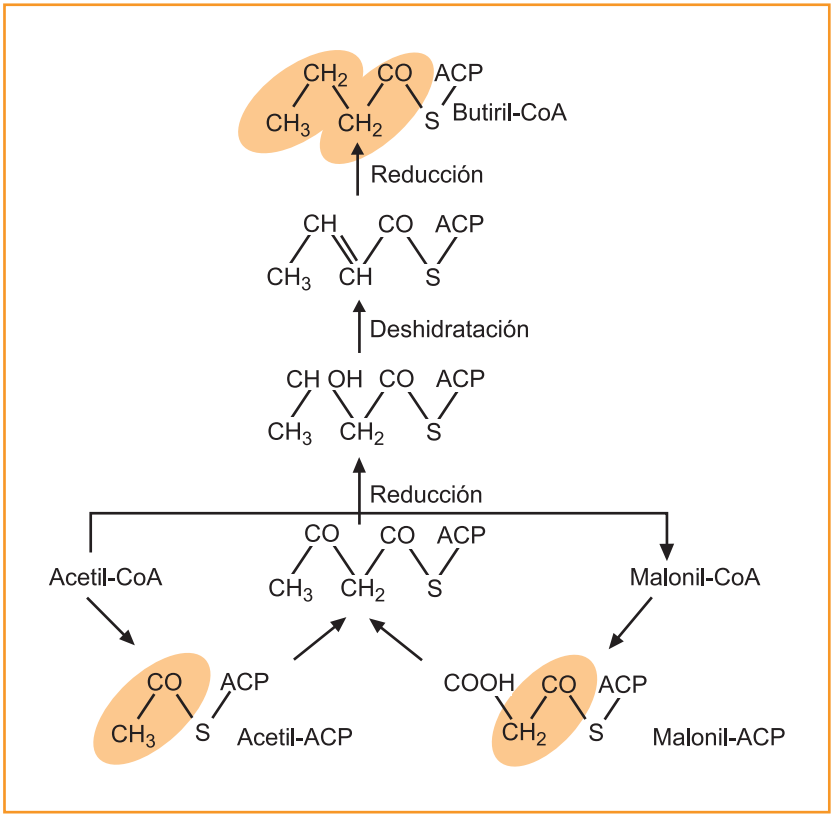


Figura 11. *Biosíntesis de ácidos grasos. Se muestra la síntesis del ácido butírico, en la que se destacan los grupos que se incorporan desde los precursores.*

4.5. Síntesis de ácidos grasos

El hígado es el principal productor de ácidos grasos. La síntesis de ácidos grasos tiene lugar en el citoplasma.

Los intermediarios se asocian a una proteína transportadora denominada ACP (***A**cyl **C**arrier **P**rotein*), lo que permite manipular estos compuestos lipídicos en el medio acuoso.

El ácido graso se construye por adición secuencial de unidades de dos átomos de carbono **(Figura 11)**. El dador es el malonil-CoA, un producto que resulta de la carboxilación del acetil-CoA. Para la carboxilación se requiere biotina, que forma parte integral de la enzima (*ver Capítulo 1.21*). En el caso de los ácidos grasos de número par de átomos de carbono se parte de acetil-ACP. En el caso de los ácidos grasos de número impar de átomos de carbono, el comienzo es el propionil-ACP.

Las enzimas biosintéticas integran un complejo denominado ácido graso sintetasa o megasintetasa. Los procesos fundamentales son la fusión, con descarboxilación del malonil-CoA y acetilo para originar acetoacetilo, la reducción, deshidratación y posterior reducción para originar butirilo. El proceso termina con la biosíntesis de palmitato (C16), la elongación posterior, así como la inserción de dobles enlaces se lleva a cabo por otros sistemas enzimáticos.

La acetil-CoA carboxilasa es la etapa reguladora. La enzima se activa cuando existe abundancia de energía, como por ejemplo cuando sobran los azúcares y se inhibe cuando falta energía. Los cambios son del tipo fosforilación-desfosforilación. Las señales reguladoras son el glucagón y la adrenalina como inhibidores, y la insulina como activador. La enzima también responde a la disponibilidad de sustratos carbonados. Así, se activa por el citrato y se inhibe por el palmitato. Este segundo nivel de regulación se debe a efectos alostéricos que afectan al estado de asociación de la enzima.

El producto principal de la síntesis de ácidos grasos es el palmitato **(Figura 12)**, a partir del cual

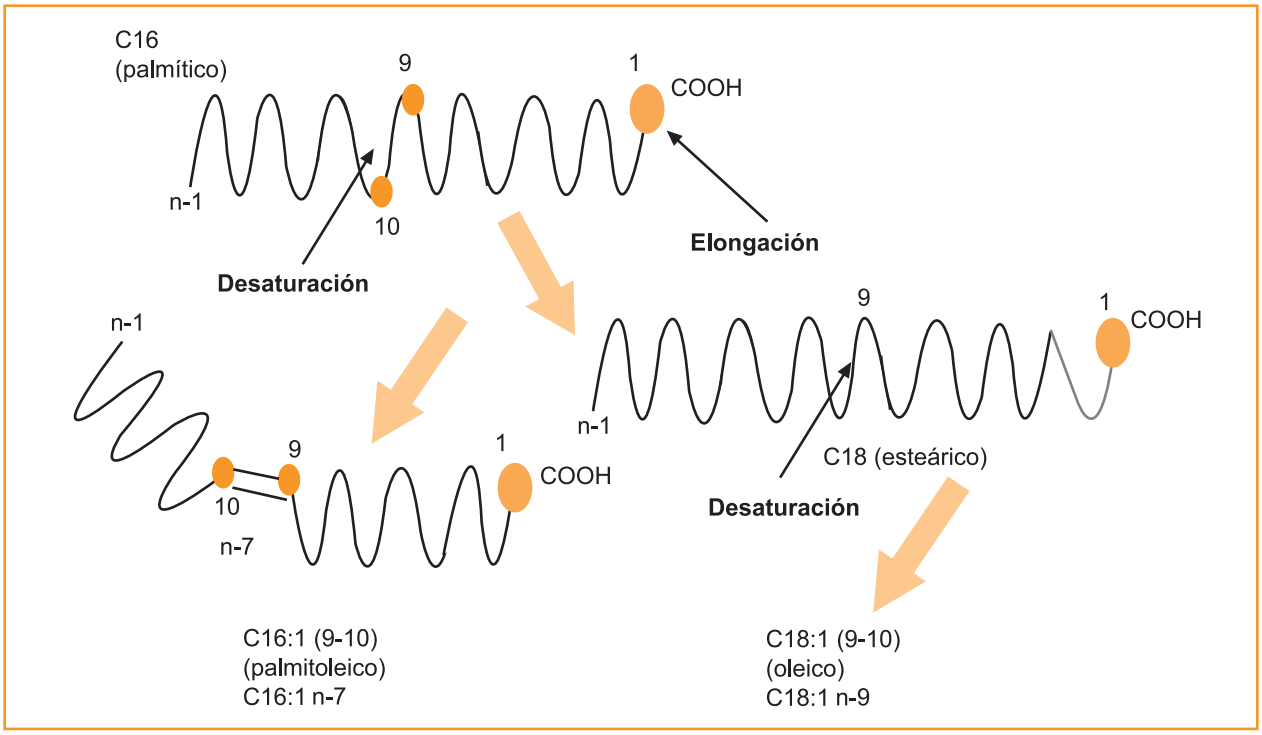


Figura 12. *Metabolismo de los ácidos grasos. Nótese la diferente numeración de los carbonos según el punto de inicio.*

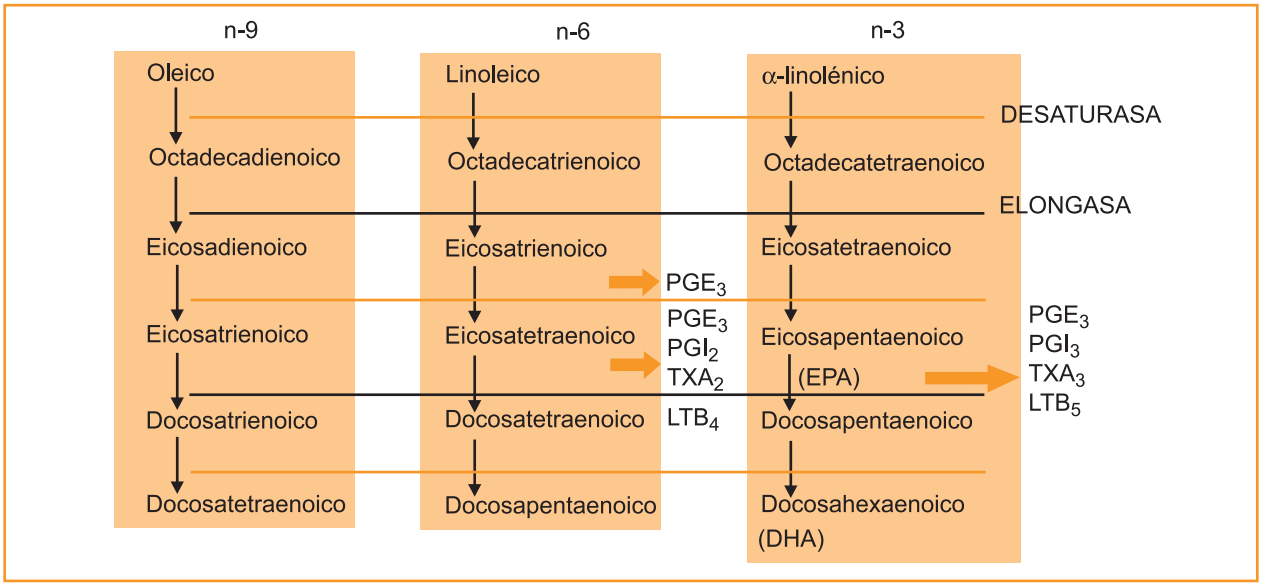


Figura 13. *Metabolismo de ácidos grasos poliinsaturados. Cada serie viene determinada por la posición de la insaturación. Los procesos de desaturación y elongación se indican con líneas (roja: desaturación; negra: elongación). PGE: prostaglandina; TXA: tromboxano; LTB: leucotrieno; PGI: prostaciclina.*

pueden formarse ácidos grasos de cadena más larga, al igual que ácidos grasos insaturados. El proceso transcurre en la cara citoplasmática del retículo endoplásmico.

La elongación tiene lugar por adición de unidades de malonil-CoA, como se ha descrito antes. Por lo general, se pueden sintetizar cadenas de hasta 20 átomos de carbono.

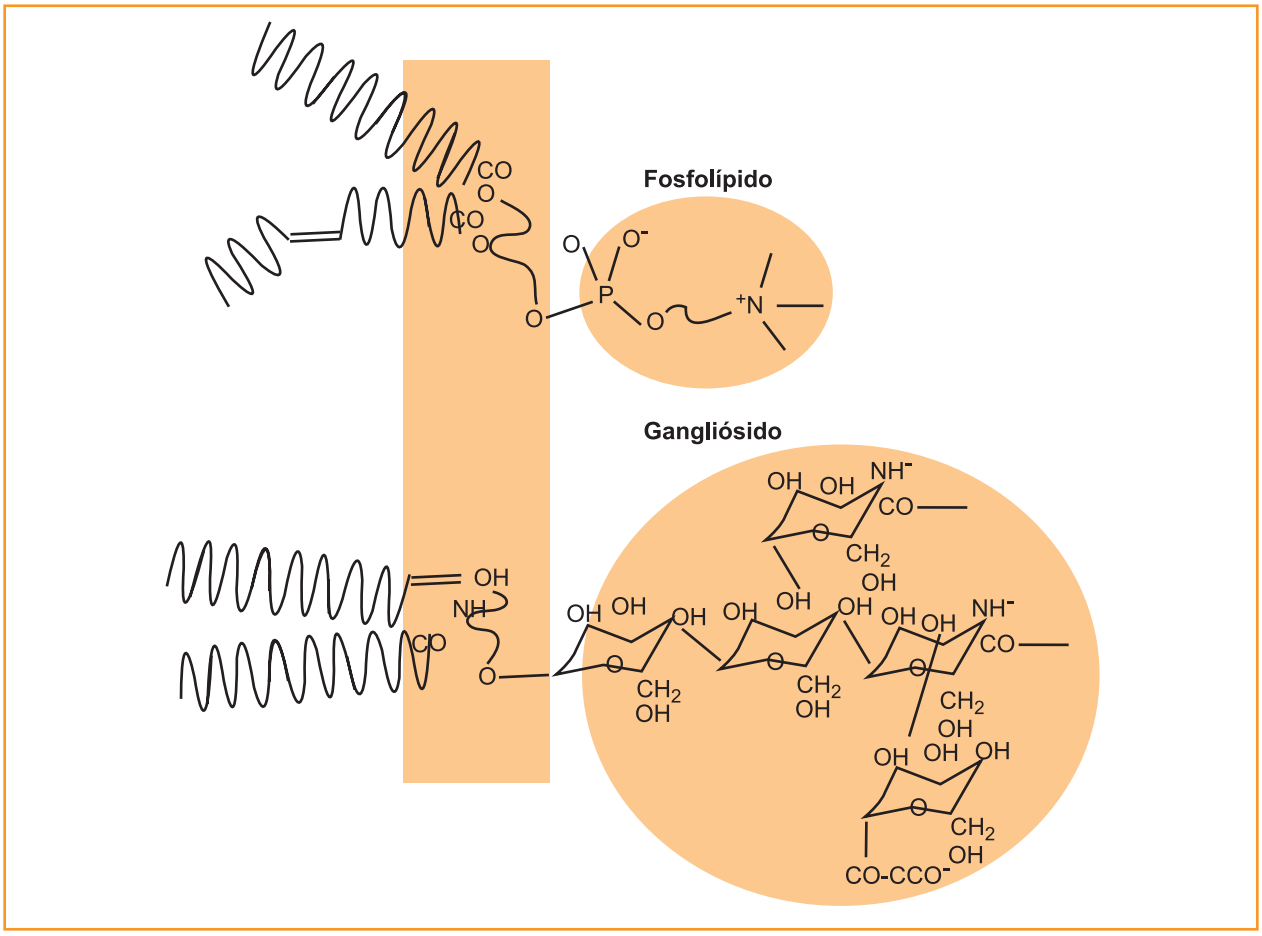


Figura 14. *Estructura de lípidos de membrana. Se muestran dos lípidos representativos: un fosfolípido, la fosfatidil colina, y un ganglíosido, el GM1. Se han enmarcado las zonas polares y la posible posición en las membranas.*

La desaturación la llevan a cabo complejos enzimáticos de membrana denominados desaturasas y pueden introducirse hasta tres dobles enlaces. Así, la desaturación del esteárico (C18) origina ácido oleico, C18:1n-9 (carbono 9) **(Figura 12)**. Un aspecto singular es la incapacidad de introducir dobles enlaces más allá del átomo de carbono 9 a partir del grupo carbonilo. Así, los mamíferos no pueden sintetizar linoleico [C18:2n-6 (carbonos 9,12)] ni α-linolénico [C18:3n-3 (carbonos 9,12,15)]. Por ello, estos ácidos grasos se consideran esenciales y deben ser ingeridos en la dieta (*ver Capítulo 1.13*).

A partir de los mismos se pueden sintetizar otros ácidos grasos como el araquidónico [eicosatetraenoico (20:4n-6)], del que derivan los eicosanoides: prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos **(Figura 13)**. Estos compuestos son hormonas locales, ya que duran muy poco tiempo en circulación. Sus efectos tienen lugar interaccionando con distintos receptores de membrana, por lo que tienen efectos diferentes según el tejido diana (*ver Capítulo 1.4*).

4.6. Regulación del metabolismo de ácidos grasos

La grasa de la dieta reduce o inhibe la transcripción de enzimas lipogénicas como la acetil-CoA carboxilasa y el complejo de la ácido graso sintetasa. Asimismo, inhibe enzimas implicadas en el suministro de intermediarios como la piruvato kinasa o la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (*ver Capítulo 1.31*).

Dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados producen la inhibición de la lipogénesis y el aumento de

la β-oxidación tanto en la mitocondria como en los peroxisomas. El aumento de la oxidación peroxisómica tiene lugar a través de la inducción de diferentes enzimas, mediado por el receptor activado por proliferadores de los peroxisomas (PPAR).

Las dietas ricas en azúcares producen cambios en la expresión de diferentes genes, directamente o a través de la insulina. En el hígado, el exceso de glucosa, una vez superada la capacidad de almacenamiento en forma de glucógeno, se transforma en ácidos grasos y en triglicéridos.

El proceso se regula a dos niveles: el primero es hormonal y tiene lugar de forma rápida, merced a efectos alostéricos sobre las enzimas. El segundo, es más lento y tiene lugar por la inducción de la expresión génica. Así, el exceso de glucosa-6 fosfato induce la expresión de la acetil-CoA carboxilasa, el complejo de la ácido graso sintasa y la ATP-citrato liasa. También aumentan la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, la 6-fosfogluconato deshidrogenasa y la enzima málica.

5. Metabolismo de fosfolípidos, esfingolípidos y otros lípidos de membrana

Los fosfolípidos y esfingolípidos y otros lípidos como los plasmalógenos forman parte de las membranas. Sus estructuras muestran una parte polar y otra apolar, lo que los hace capaces de originar las membranas, al orientarse en el entorno acuoso por agrupamiento de las partes hidrofóbicas. Aunque puedan apreciarse notables diferencias, todos ellos adoptan una disposición similar **(Figura 14)**.

El colesterol es otro elemento fundamental de las membranas, como se estudiará más adelante.

5.1. Biosíntesis de fosfolípidos, plasmalógenos y esfingolípidos

El punto de partida para la síntesis de fosfolípidos es el ácido fosfatídico **(Figura 2)**, sintetizado en el retículo endoplásmico y en la membrana mitocondrial externa a partir del glicerol fosfato y ácidos grasos. El glicerol fosfato procede de la dihidroxiacetona de la glucólisis y del glicerol (en menor medida). Además, son necesarios alcoholes entre los que cabe destacar la colina procedente de la dieta.

La pérdida del fosfato del ácido fosfatídico origina diacilglicerol (DAG), el cual se utiliza para la síntesis de fosfolípidos, así como de triglicéridos.

La síntesis de fosfolípidos requiere de DAG y de un alcohol. Las reacciones pueden hacerse a partir del DAG activado o del alcohol activado. En todos los casos participa el CTP, originando CDP-DAG o CDP-etanolamina o CDP-colina. Dado que la fosfatidilcolina se puede obtener de la fosfatidiletanolamina, existen pues dos vías para la síntesis de este fosfolípido, el más común en las membranas.

Los plasmalógenos se diferencian de los fosfolípidos en que tienen un radical éter en lugar de un radical acilo. Como se muestra en la **Figura 9**, la síntesis parte de la dihidroxiacetona fosfato, en lugar del glicerol fosfato. Su síntesis tiene lugar en el retículo endoplásmico con productos generados en los peroxisomas.

Los esfingolípidos se sintetizan a partir de la esfingosina, un derivado del ácido palmítico y la serina **(Figura 2)**. Para la formación de la esfingosina se requiere el aporte dietético de piridoxal fosfato. Tras unir un ácido graso, se forman las denominadas ceramidas, compuestos muy parecidos al diacilglicerol antes mencionado. El aporte posterior de un alcohol como la colina origina uno de los esfingolípidos más conocidos: la esfingomielina.

A diferencia de los fosfolípidos, los esfingolípidos pueden contener azúcares. En los cerebrósidos existe una única molécula de glucosa o galactosa. En los gangliósidos se trata de una cadena azucarada que determina una estructura definida **(Figura 14)**. La adición de los azúcares se realiza de uno en uno por la acción de glicosil transferasas. Las diferentes glicosil transferasas determinan en los distintos tejidos gangliósidos muy diferentes.

Un aspecto digno de reseñar es que en la mayoría de los lípidos sintetizados se encuentran diferentes ácidos grasos. En los fosfolípidos se encuentra un ácido graso saturado y otro insaturado. Salvo en el caso del fosfatidil inositol, en que los ácidos grasos son siempre los mismos, en los demás son muy variables, por lo que se considera oportuno referirse siempre a estos lípidos como si de una categoría se tratase **(Tabla 2)**. La denominación fosfolípidos o esfingolípidos es más frecuente que la de un fosfolípido o esfingolípido en particular.

Tabla 2. COMPOSICIÓN DE LOS PRINCIPALES LÍPIDOS DE MEMBRANA

Denominación	Alcohol	Ácidos grasos
Fosfatidilserina	Serina	Variable
Fosfatidilinositol	Inositol	Esteárico araquidónico
Fosfatidiletanolamina	Etanolamina	Variable
Fosfatidilcolina	Colina	Variable
Fosfatidalcolina	Colina	Variable
Esfingomielina	Esfingosina, colina	Palmítico y otro
Cerebrósidos	Esfingosina	Palmítico y otro

La variabilidad en la composición de ácidos grasos que componen los lípidos de membrana depende de los ácidos grasos disponibles y éstos, a su vez, de la dieta. De esta forma la composición de las membranas varía en función de la dieta.

Muchos de los lípidos de membrana pueden derivarse de ella, como consecuencia de la pérdida de uno de los ácidos grasos. Así, la hidrólisis del fosfatidil inositol por la fosfolipasa C origina moléculas más solubles que cumplen importantes funciones. De igual forma, la introducción de un grupo acetilo en lugar del ácido graso en el plasmalógeno derivado del fosfatidalcolina origina el factor activador de las plaquetas, un lípido más hidrosoluble con importantes funciones biológicas.

5.2. Degradación de lípidos de membrana en los lisosomas

Los lisosomas son orgánulos subcelulares heterogéneos que contienen enzimas hidrolíticas. De hecho, se consideran como el lugar donde se lleva a cabo la digestión controlada de todas las macromoléculas.

Los lisosomas se forman como vesículas que se desprenden del Golgi. Estas vesículas contienen entre sus proteínas de membrana receptores para proteínas que contienen manosa 6-fosfato, así como una bomba de protones capaz de mantener el interior a un pH ácido. Los receptores de membrana se encuentran agrupados gracias a su interacción con moléculas de clatrina.

El dispositivo es idéntico al descrito en la entrada de lipoproteínas (*ver Capítulo 1.11*). De hecho, los endosomas resultantes de la endocitosis se fusionan con los lisosomas liberados del Golgi (llamados endolisosomas), de los que son difíciles de diferenciar. Las enzimas hidrolíticas en los endolisosomas son proteínas ancladas a la membrana interna de la vesícula, de la que se disocian como consecuencia del pH. Las vesículas que contienen los receptores y la clatrina pueden reutilizarse para captar más hidrolasas (o más lipoproteínas).

Los lisosomas pueden fusionarse, además de con los endosomas, con otras vesículas como los fagosomas o con los autofagosomas. Los fagosomas resultan de la entrada de materiales externos a la célula, mientras que los autofagosomas, de los materiales internos. Los autofagosomas se forman al envolver con membranas derivadas del retículo endoplásmico estructuras celulares tales como las mitocondrias.

Como podrá deducirse, a los lisosomas llegan los lípidos de membrana -mejor dicho las membranas completas-, procedentes tanto del interior como de la membrana de la célula.

El arsenal enzimático de los lisosomas incluye enzimas capaces de destruir los lípidos de membrana. La presencia de lipasas, fosfatasas, sulfatasas, fosfolipasas, además de otras muchas hidrolasas, permite degradar los lípidos antes señalados, con la excepción del colesterol.

Mención especial merece la degradación de los gangliósidos, la cual tiene lugar paso a paso por la acción de exohidrolasas que van eliminando los elementos terminales **(Figura 15)**. La ausencia de cualquiera de las enzimas detiene el proceso degradativo, lo que conduce a la acumulación de unos fragmentos en los lisosomas y a la elimina-

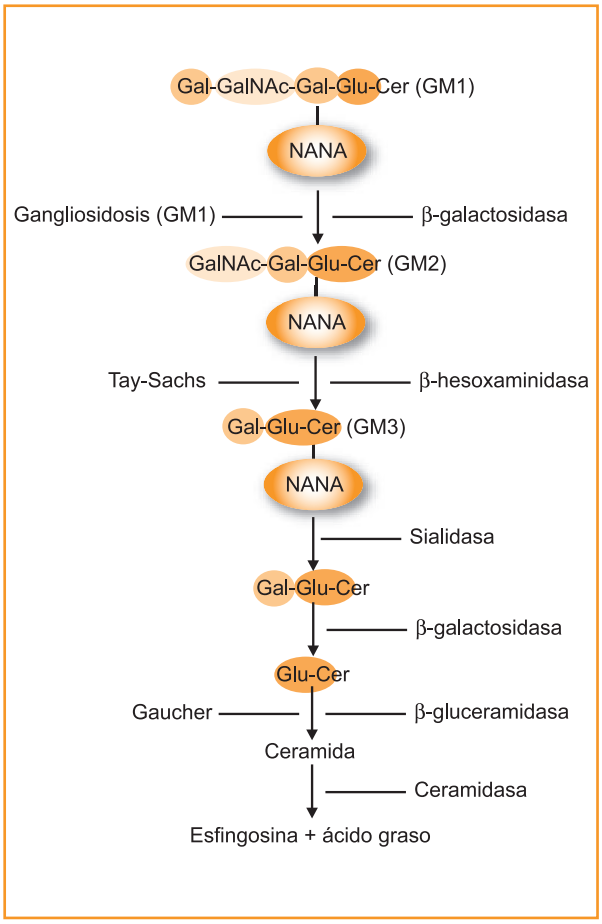


Figura 15. *Metabolismo de los gangliósidos. Se indican algunas de las enfermedades lisosomales. Cer: ceramida; Gal: galactosa; GalNAc: N-acetil galactosamina; Glu: glucosa; NANA: N-acetil neuramínico; GM: ganglósido.*

ción de otros fragmentos en la orina. La acumulación resulta tóxica para la célula, alterando su función o provocando la muerte celular.

Para la hidrólisis se requieren proteínas que extraigan los lípidos de la membrana, de forma que se forme el complejo soluble con la enzima. Este papel lo cumplen las denominadas saposinas. La mejor conocida es el denominado activador del GM2, que consiste en una cadena de 162 aminoácidos con una cadena de oligosacáridos N-terminal. Esta saposina se une al GM2 y facilita la acción de la n-acetil-hexosaminidasa. Las saposinas A y C ayudan a las enzimas glicosilceramidasa y galactosilceramidasa, la saposina B, a la arilsulfatasa, a la galactosidasa, a la sialidasa y a la galactosidasa. Las saposinas derivan de un precursor común. La ausencia del precursor es mortal.

Las personas afectadas por los déficit de enzimas lisosomales pueden presentar signos clínicos muy variados, aunque predominan los trastornos del sistema nervioso, por contener gran cantidad de esfingolípidos. Enfermedades como la de Tay-Sachs (donde se acumula el ganglósido GM2) o la de Krabbe (donde se acumulan galactosilceramidas) originan una degeneración neurológica muy rápida con desmielinización. Enfermedades como la de Gaucher (donde se acumula glicosilceramida) o la de Fabry (donde se acumula galactosilceramida) originan afecciones multisistémicas tales como anemia, trombocitopenia y hepatomegalia o angioqueratomas y lesiones viscerales, respectivamente.

6. Metabolismo del colesterol

A diferencia de los otros lípidos, el colesterol no se descompone en sus elementos, esto es, no se destruye. Ese hecho tiene una enorme importancia en la génesis del ateroma (*ver Capítulo 1.11*). En los apartados siguientes se analizan su síntesis y sus transformaciones.

6.1. Síntesis de colesterol

La mayoría de los tejidos tienen capacidad para la síntesis de colesterol. No obstante, el hígado es el suministrador de colesterol a los tejidos a través de las lipoproteínas. La entrada de colesterol a los tejidos, como se explicó en el Capítulo 1.11, reprime la síntesis en los tejidos periféricos.

En el hígado también se produce la inhibición de la síntesis con la entrada de colesterol exógeno procedente de la dieta, formando parte fundamentalmente de los remanentes de quilomicrón. Por tanto, el hígado se convierte en el árbitro que determina las necesidades de colesterol para el conjunto del organismo y pone en marcha su síntesis sólo cuando el aporte dietético es insuficiente, teniendo en cuenta el enorme gasto de síntesis, con lo que se produce un considerable ahorro energético. Como se verá más adelante, el hígado también es el principal órgano donde se excreta. Por todo ello, el hígado se encuentra en la encrucijada del metabolismo del colesterol.

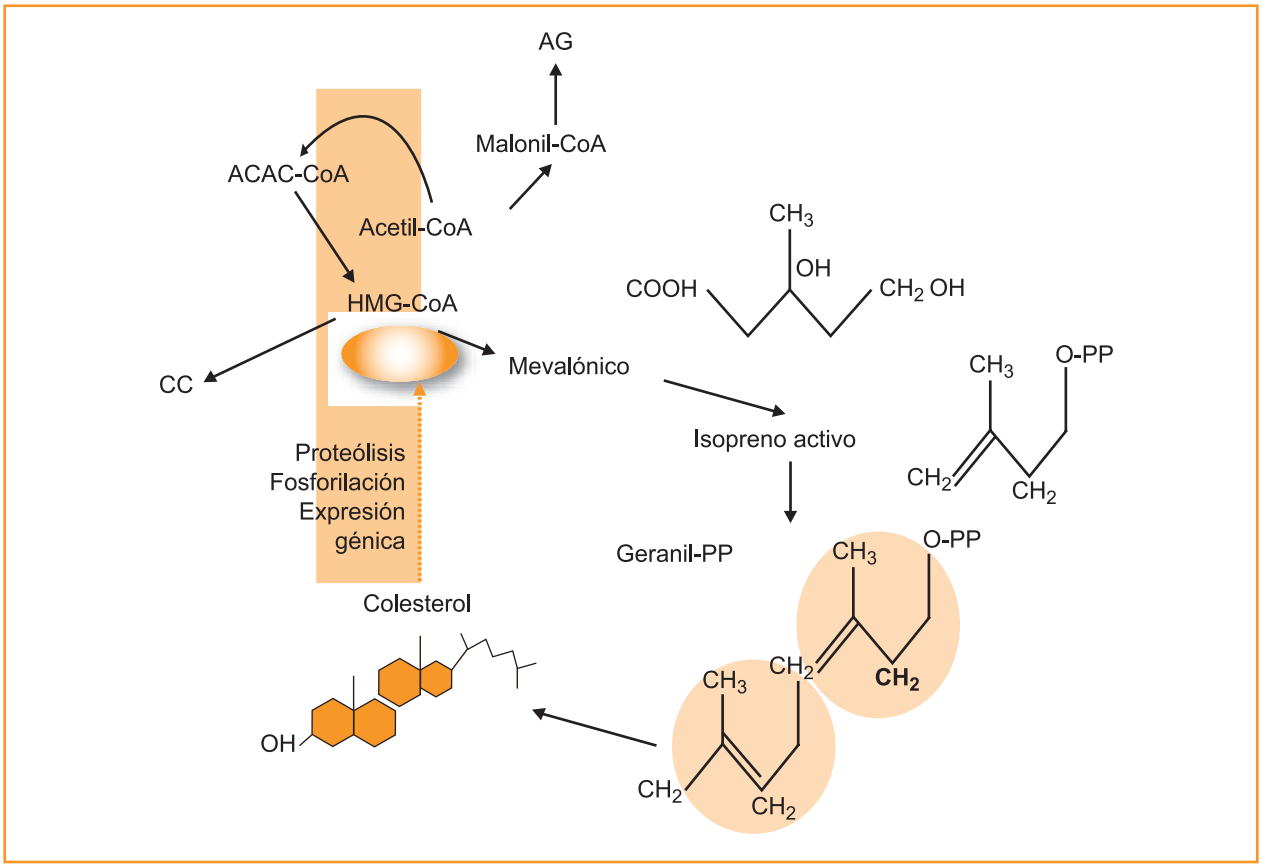


Figura 16. *Metabolismo del colesterol y sus derivados. Nótese la regulación por el colesterol. ACAC-CoA: acetoacetil coenzima A; AG: ácido graso; HMG-CoA: hidroximetil glutaril coenzima A; PP: pirofosfato; CC: cuerpos cetónicos.*

La síntesis de colesterol tiene lugar a partir del mismo punto desde donde se sintetizan los cuerpos cetónicos: el hidroximetil glutaril-CoA, o HMG-CoA **(Figura 16)**. El proceso comienza con la formación de ácido mevalónico por acción de la enzima HMG-CoA reductasa, la cual es inhibida por el colesterol exógeno. El mevalónico se convierte en isopreno activo (isopentenil pirofosfato) en reacciones sucesivas, todas ellas con gasto energético. Posteriormente, seis isoprenos se condensan para originar escualeno en varias reacciones sucesivas con gasto energético. Finalmente, el escualeno se cicla para originar el colesterol en un proceso que tiene lugar en múltiples pasos.

El control fundamental de la síntesis se ejerce sobre la HMG-CoA reductasa y por varios mecanismos. Por una parte, la enzima puede regularse mediante fosforilación-desfosforilación por una proteína kinasa activada por AMP. Así, cuando hay poco ATP, esto es, aumenta el AMP, se desactiva la síntesis.

Por otra parte, la expresión de la enzima está controlada por una proteína denominada SREBP, que se produce sólo en condiciones de escasez de colesterol. En realidad, la proteína se encuentra como una proteína de mayor tamaño, de la que se libera la SREBP por una proteólisis del extremo que la une a las membranas en las que se encuentra anclada. La SREBP también activa la expresión de otras enzimas de la biosíntesis del colesterol y otros esteroides, cuyos genes tienen en común un elemento de respuesta a esteroides (SRE). Por tanto, en presencia de colesterol se desactiva la síntesis de la enzima.

Todavía existen otros dos mecanismos de control en los que el colesterol actúa como inhibidor: la velocidad de la traducción del RNAm y la degradación de la enzima, de modo que un aumento de colesterol hace que la enzima sea más susceptible a proteólisis (como ocurre con el precursor de la SREBP) (*ver Capítulo 1.7*).

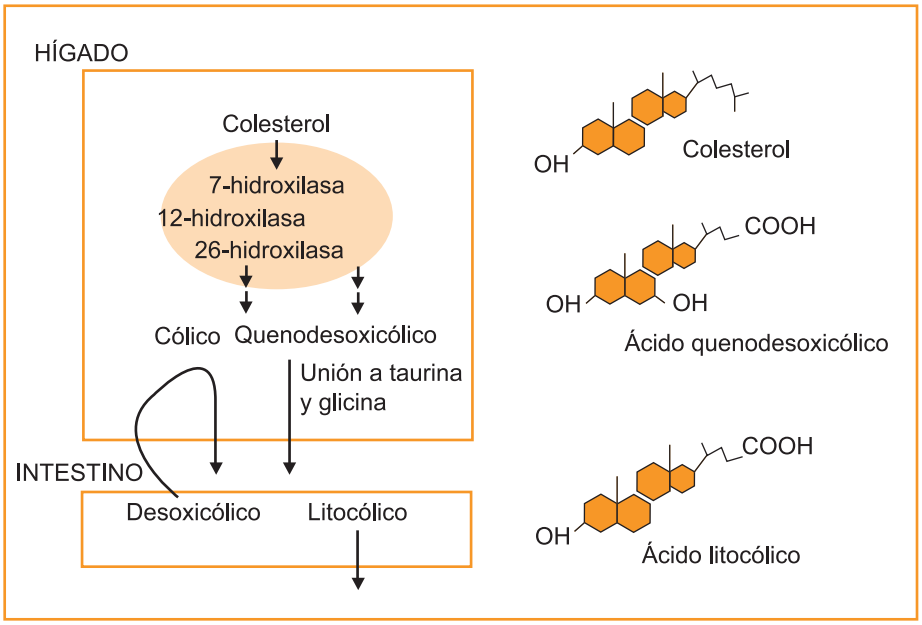


Figura 17. *Metabolismo de los ácidos biliares. A la derecha se muestran las estructuras de colesterol y de un ácido biliar primario y secundario.*

6.2. Transformación en sales biliares

La bilis se forma en el hígado, se almacena en la vesícula biliar y se libera al intestino. En la bilis se elimina colesterol y el principal producto de su degradación: las sales biliares. No obstante, las cantidades eliminadas son poco significativas dada la reabsorción intestinal.

Las sales biliares se forman por hidroxilación del núcleo y modificación de la cadena lateral del colesterol **(Figura 17)**. Las hidroxilaciones las llevan a cabo enzimas del sistema P-450. Se forman principalmente los ácidos quenodesoxicólico y cólico (conocidos como ácidos biliares primarios). Éstos se transforman en derivados activos con el coenzima A, los cuales puede reaccionar con los aminoácidos glicina o taurina para formar las correspondientes sales biliares. Por ejemplo, glicocolato y taurocolato.

Los conjugados sufren en el intestino la acción de bacterias que eliminan el hidroxilo 7, dando lugar a los derivados desoxicolatos (del ácido cólico) y litocolatos (del ácido quenodesoxicólico). A éstos se les conoce como sales biliares secundarias.

Las sales biliares y el colesterol liberado al intestino sufren un proceso de reabsorción desde el intestino al hígado. En el caso del colesterol, el proceso se confunde con la absorción del colesterol de la dieta. En el caso de las sales biliares, y tras su modificación por las bacterias intestinales, se absorben en el tramo final del intestino, con la excepción del litocolato.

La síntesis de sales biliares está controlada fundamentalmente por las hidroxilasas hepáticas. De ellas, la 7-hidroxilasa es la clave. La enzima se regula por el producto final, y resulta interesante destacar que funciona de modo sincronizado con la HMG-CoA reductasa, que es la enzima clave en la síntesis del colesterol. La 12-hidroxilasa, necesaria para la formación de colato, aumenta su actividad en situaciones de ayuno y disminuye en el hipertiroidismo. Las actividades enzimáticas, en general, son estimuladas por los fosfolípidos, lo que puede estar relacionado con su función, como se comenta a continuación.

La introducción de grupos hidroxilo en el colesterol le confiere un poder emulgente muy grande, y así las sales biliares sirven para emulsionar la grasa (como los fosfolípidos) y facilitar la digestión. Sin su concurso, las grasas ingeridas no llegan a digerirse completamente, lo que impide su absorción. De igual modo, las sales biliares emulsionan el colesterol biliar. Es por ello por lo que la disminución de sales biliares predispone a la formación de cálculos biliares, los cuales pueden redisolverse con la administración de ácidos biliares como el quenodesoxicólico o ursocólico (*ver Capítulo 1.8*).

6.3. Transformación en hormonas esteroideas

Además de la transformación en sales biliares por el hígado, diversos tejidos transforman el co-

Tabla 3. ESTEROIDES CON FUNCIÓN HORMONAL

Hormona	Tejido de síntesis	Funciones
Progesterona	Cuerpo lúteo	Factor de diferenciación de glándula mamaria, mantenimiento del endometrio uterino
Estradiol	Folículo ovárico, cuerpo lúteo, células de Sertoli	Regulación de gonadotropinas en el ciclo ovárico, mantenimiento del endometrio uterino, diferenciación glándula mamaria
Testosterona	Células de Leydig, glándula suprarrenal, ovarios	Producción de proteínas del esperma, características sexuales secundarias
DHEA	Glándula suprarrenal	Inhibe la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, regula los coenzimas NAD
Cortisol	Glándula suprarrenal	Aumenta el glucógeno hepático, inhibe los linfocitos T, incrementa la presión sanguínea
Aldosterona	Glándula suprarrenal	Absorción de sodio, aumenta la presión sanguínea y la volemia
1,25-dihidroxi vitamina D	Riñón	Eleva la absorción de calcio y fosfato, induce a la proteína de unión al calcio

DHEA: deshidroepiandrosterona.

lesterol en las denominadas hormonas esteroideas y en el calcitriol, esto es, el derivado de la vitamina D.

Los esteroides derivados del colesterol son hormonas que actúan uniéndose a factores de transcripción para regular la expresión de muchos genes en los tejidos diana. Las principales acciones se muestran en la **Tabla 3**, y se estudian con más detalle en los Capítulos 1.4 y 1.24.

Las transformaciones del colesterol que originan los esteroides hormonales consisten en la hidroxilación y la modificación de la cadena lateral **(Figura 18)**. El núcleo del ciclopentano-perhidrofenantreno no puede manipularse. Recuérdese que su formación es una reacción extraordinaria de condensación. Es digno de reseñar que las hidroxilaciones se llevan a cabo por enzimas del sistema P-450, el mismo que hidroxila muchos xenobióticos, como los barbitúricos.

Todos los esteroides presentan estructuras muy parecidas y, sin embargo, los efectos son muy diferentes **(Figura 18)**. Los factores de transcripción (receptores) que las reconocen pertenecen a una misma familia, entre cuyos miembros también se encuentra el receptor del ácido retinoico y el receptor de la hormona tiroidea. Ello indica la extremada capacidad de discriminación de esta familia de proteínas.

En algunos casos se produce el reconocimiento de más de una hormona, de ahí que en alguna medida la acción de un esteroide pueda ser mimetizada por otro. En este sentido, tiene gran importancia la cantidad relativa de la hormona presente (*ver más adelante el síndrome de exceso aparente de mineralocorticoides*).

Los tejidos esteroidogénicos utilizan el colesterol que les llega en las lipoproteínas LDL y HDL. Para la captación de LDL y HDL existen receptores específicos (*ver Capítulo 1.11*).

Del colesterol se forman la pregnenolona y la progesterona en todos los tejidos esteroidogénicos. Las demás transformaciones ocurren de acuerdo con la existencia de las enzimas específicas en cada tejido: en las cápsulas suprarrenales, (cortisol y aldosterona) y en los órganos genitales (testosterona y estradiol).

La distribución de enzimas es sumamente específica. Las enzimas implicadas en el metabolismo de una hormona se encuentran en diferentes tejidos y en diferentes zonas de un tejido. Así, en la glándula suprarrenal se distinguen diversas zonas específicas para una determinada transformación **(Figura 19)**.

La existencia de localizaciones específicas hace que en muchos casos la hormona viaje de un tejido a otro. Así, la testosterona se forma por la acción

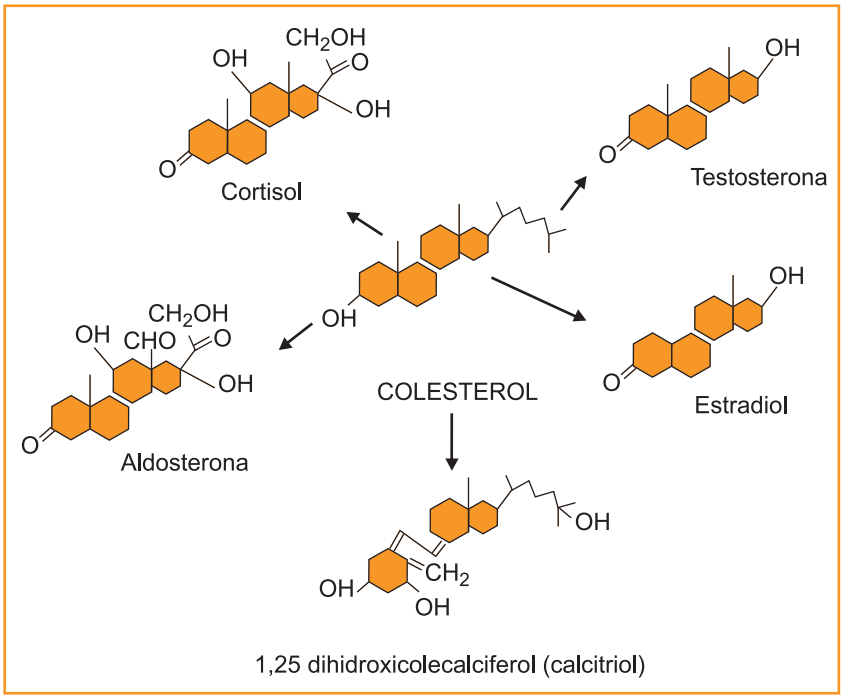


Figura 18. *Estructuras de hormonas derivadas del colesterol.*

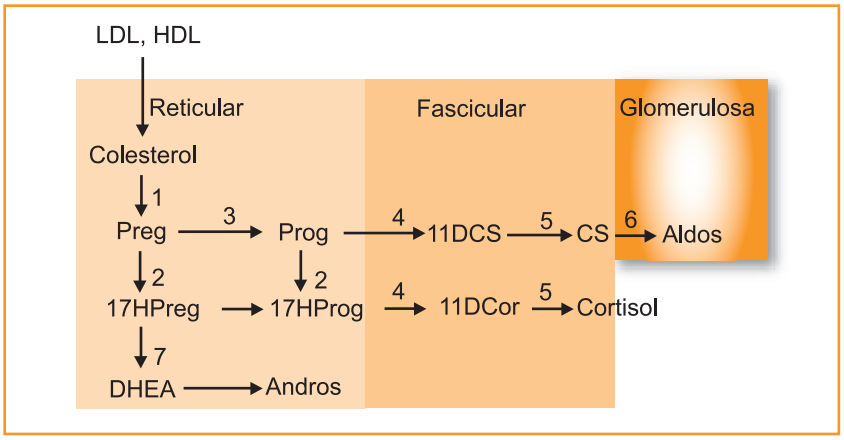


Figura 19. *Metabolismo de esteroides suprarrenales. Preg: pregnenolona; 17HPreg: 17-hidroxipregnenolona; DHEA: deshidroepiandrosterona; Prog: progesterona; 17HProg: 17-hidroxiprogesterona; Andros: androstenodiona; 11DCS: 11 desoxicorticosterona; 11DCor: 11 desoxicortisol; CS: corticosterona; Aldos: aldosterona. Enzimas: 1: desmolasa; 2: 17-α-hidroxilasa citoplasmática; 3: 3-β-deshidrogenasa; 4: 21-hidroxilasa citoplasmática; 5: 11-β hidroxilasa mitocondrial; 6: 18-hidroxilasa mitocondrial; 7: liasa.*

de la enzima 17-oxoesteroide reductasa presente en las células de Leydig de los tubos seminíferos y puede proceder de la DHEA (deshidroepiandrosterona) de las suprarrenales. El estradiol se forma por la acción de la aromatasa presente en los folículos ováricos seguido de la 17-oxoesteroide reductasa. La testosterona se transforma en dihidrotestosterona, que es la que conduce a la aparición de las características sexuales, en los tejidos periféricos. En el caso de la adrostenodiona, puede transformarse en testosterona. En el caso de la vitamina D, el colesterol se transforma en colecalciferol en la piel, posteriormente se hidroxila en el hígado y después en el riñón.

Las transformaciones tienen lugar en diferentes zonas dentro de las células. Las primeras y últimas transformaciones tienen lugar en las mitocondrias, y las intermedias en el retículo endoplásmico, lo que supone un movimiento importante. Para facilitar el movimiento de intermediarios, existen las denominadas proteínas stAR. Su papel es imprescindible. Los pacientes con hiperplasia adrenal congénita lipoide no disponen de estas proteínas y no son capaces de hacer hormonas. La falta de hormonas aumenta las señales para su producción, lo que origina la hiperplasia. La captación, pero no utilización de colesterol, hace que se produzcan los depósitos lipídicos.

Los productos liberados al plasma son muy variados. Así, de la glándula suprarrenal los principales productos son cortisol (conocido como glucocorticoide), aldosterona (conocida como mineralocorticoide) y deshidroepiandrosterona (DHEA), aunque se forman también algo de androstenodiona y testosterona (conocidos todos ellos como andrógenos). La actividad relativa de unas enzimas con relación a otras puede determinar el flujo en uno u otro sentido. Así, en síndrome adrenogenital, el defecto de la 21-hi-

Tabla 4. METABOLISMO Y EXCRECIÓN DE ESTEROIDES

Hormona	Cortisol	Aldosterona	Deshidroepiandrosterona	Estradiol
Metabolitos hepáticos	Cortisona	3-OH-aldosterona	Androstenodiona	Estriol
	3-OH-cortisol	18-OH-aldosterona	Etiocolanolona	
	Conjugados con ácido glucurónico y sulfatos			
Excreción	17-hidroxiesteroides		17-cetosteroides	

droxilasa bloquea la síntesis de aldosterona y dirige el flujo hacia la síntesis de andrógenos, lo que hace que aparezcan síntomas propios de una alteración genital.

Las hormonas esteroideas circulan en la sangre unidas a proteínas como la globulina fijadora de cortisol (CBG), la globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG), la proteína de fijación de andrógenos (ABP) o la albúmina. Mientras permanecen unidas a las proteínas son inactivas.

Las hormonas esteroideas se transforman finalmente en el hígado en productos de excreción **(Tabla 4)**. Se trata de procesos de hidroxilación y reducción. El cortisol y la aldosterona dan lugar a la excreción de los denominados 17-hidroxiesteroides, mientras que la deshidroepiandrosterona, a los 17-cetosteroides. El estradiol se metaboliza hasta estriol. Todos los derivados se conjugan con el ácido glucurónico o con sulfatos para su excreción.

No sólo el hígado es capaz de inutilizar hormonas esteroides. El riñón también puede inactivar al cortisol. La falta en el riñón de la enzima 11-hidroxiesteroide deshidrogenasa origina el denominado síndrome de exceso aparente de mineralocorticoides. En este síndrome no hay cantidades elevadas de mineralocorticoides, aunque los pacientes presentan hipertensión, hipokaliemia y otros que son los esperados si hubiera mucha aldosterona. La explicación de los efectos se debe a que la falta de inactivación del cortisol mantenga al cortisol en mucha mayor cantidad que la aldosterona, de forma que active los receptores de aldosterona renales.

7. Resumen

- Los triglicéridos se sintetizan en el intestino con la grasa ingerida y en el hígado cuando hay exceso de energía. Los triglicéridos son transportados como lipoproteínas e hidrolizados en los endotelios vecinos a los tejidos. Los ácidos grasos libres son esterificados en el tejido adiposo, donde se almacenan como triglicéridos.

- El tejido adiposo es el principal almacén de ácidos grasos en forma de triglicéridos. La naturaleza hidrófoba de los triglicéridos es adecuada al almacenamiento. Los triglicéridos pueden ser movilizados por la acción hidrolítica de lipasas, rindiendo de nuevo ácidos grasos para su uso por otros tejidos. El tejido adiposo marrón, a diferencia del blanco, consume los triglicéridos y produce calor.

- En los obesos se presentan varias alteraciones de la homeostasis energética que conducen a la acumulación de triglicéridos.

- Los ácidos grasos son combustibles metabólicos muy energéticos. La carnitina es esencial para la oxidación mitocondrial de los ácidos grasos. Existen otras formas de oxidar los ácidos grasos distintas de la β-oxidación. En los peroxisomas tiene lugar la oxidación de muchos ácidos grasos inusuales.

- Los cuerpos cetónicos se forman cuando la degradación de los ácidos grasos no puede completarse. Los cuerpos cetónicos se utilizan para obtener energía o para la síntesis de lípidos.

- Los ácidos grasos se sintetizan en el hígado y otros muchos tejidos. La regulación de la síntesis y degradación de los ácidos grasos es hormonal.

- Las dietas ricas en grasa inhiben la lipogénesis y activan la degradación, mientras que las dietas ricas en azúcares hacen lo contrario. Los fosfolípidos, esfingolípidos y otros lípidos de membrana se sintetizan siguiendo vías parecidas. Los lípidos de membrana se degradan en los lisosomas. El colesterol se sintetiza en el hígado en función del aporte de la dieta y las necesidades de los tejidos. El hígado elimina colesterol y sales biliares. El colesterol se transforma en diversos esteroides con función hormonal.

8. Bibliografía

Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molecular Biology of the Cell. Garland Publ. New York, 1989.
En los distintos capítulos de este libro pueden encontrarse las claves de muchos de los procesos celulares de macromoléculas y orgánulos. De especial interés para el metabolismo lipídico es el estudio de las mitocondrias, lisosomas y peroxisomas.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Bioquímica. Reverté. Barcelona, 2003.
En los distintos capítulos de este libro de bioquímica general puede encontrarse información básica sobre los diferentes aspectos del metabolismo de lípidos, con especial énfasis en las estructuras moleculares que intervienen.

Pámpols T, Girós ML, Moser A, Moser H. Enfermedades peroxisomales. En: González Sastre F, Guinovart JJ (eds.). Patología Molecular. Masson. Barcelona, 2003: 399-439.
El artículo analiza la estructura y función de los peroxisomas, así como de la patología asociada. Se describen las anomalías genéticas de la biogénesis y de las etapas aisladas del metabolismo de los ácidos grasos. Se trata el diagnóstico y consejo genético de las enfermedades peroxisomales.

Ribes A, Rodés M, Gregersen N, Divry P. Trastornos de la β-oxidación mitocondrial. En: González Sastre F, Guinovart JJ (eds.). Patología Molecular. Masson. Barcelona, 2003: 333-55.
Completa revisión de los trastornos enzimáticos de la oxidación de los ácidos grasos en sus aspectos clínicos, mutacionales, relación genotipo-fenotipo, incidencia, diagnóstico y tratamiento.

Sánchez-Pozo A. Alteraciones del metabolismo de los ácidos grasos, triacilglicéridos, fosfoglicéridos y esfingolípidos. En: González de Buitrago JM, Arilla E, Rodríguez-Segade M, Sánchez-Pozo A (eds.). Bioquímica Clínica. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 1998: 173-9.
Revisión de los principales aspectos del metabolismo lipídico, especialmente de los lípidos complejos y su relación con las pruebas diagnósticas y síntomas clínicos.

Viña JR, Torres L. Nutrición y expresión génica. En: González de Buitrago JM, Medina JM (eds.). Patología Molecular. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 2001: 433-45.
El artículo presenta una revisión de los aspectos más sobresalientes del efecto de los nutrientes sobre la expresión génica en diversas situaciones, con especial énfasis en el desarrollo. Asimismo, se presenta la tecnología bioquímica para el estudio de estos efectos.

9. Enlaces web

- pubs.ama-assn.org/cgi/collection/lipids_and_lipid_disorders?page=4
- www.merck.com/mrkshared/mmanual_home2/sec23/ch282/ch282d.jsp
- www.merz.com/health/lipid_metabolism/
- www.med.unibs.it/~marchesi/fatoxidationdisorders.html
- medlineplus.gov/
- www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi
- www.gen-au.at/english/project.jsp?id=14

1.13. Funciones biológicas y metabolismo de los ácidos grasos esenciales y de sus derivados activos

Alfonso Valenzuela Bonomo ■ Ricardo Uauy Dagach-Imbarack

Capítulo 1.13.

Funciones biológicas y metabolismo de los ácidos grasos esenciales y de sus derivados activos

1. Introducción
2. Los ácidos grasos esenciales (AGE) y sus derivados en la nutrición humana
3. Bases moleculares y bioquímicas de la esencialidad
4. Metabolismo de los AGE y de los AGPICL, interrelaciones y regulación
5. Rol de los AGE y sus derivados en el funcionamiento del organismo
6. Los AGE en la regulación de la expresión de genes
7. Fuentes dietéticas y disponibilidad de los AGE y sus derivados
8. Efectos bioquímicos funcionales del déficit de AGE (indicadores)
9. Trastornos del metabolismo de los AGE de causas nutricionales y genéticas
10. Cómo cumplir con las recomendaciones dietéticas de AGE, bajo condiciones de salud y enfermedad
11. Resumen
12. Bibliografía
13. Enlaces web

Objetivos

- Conocer las bases bioquímicas y moleculares de la esencialidad de los ácidos grasos esenciales (AGE).
- Conocer el metabolismo de los AGE y de sus derivados y cómo se regula por acción de hormonas y dieta. Balance entre n-6 y n-3.
- Identificar las funciones afectadas por el déficit de AGE en el cuerpo y conocer el rol de los AGE y sus derivados en dichas funciones.
- Comprender cómo funciona la absorción, el transporte y el contenido tisular de AGE y sus derivados.
- Reconocer los efectos del déficit AGE y sus derivados sobre la salud humana y cómo evaluarlos en diferentes etapas de la vida.
- Analizar los factores dietéticos y nutricionales que determinan riesgo de déficit y desequilibrio a nivel individual y poblacional.
- Conocer las fuentes de AGE y sus derivados y cómo cumplir con las recomendaciones de ingesta dietética AGE.

1. Introducción

La esencialidad de los ácidos grasos fue descubierta por George y Mildred Burr en 1929. Estos investigadores, además esposos, observaron que la alimentación de ratas con una dieta carente totalmente de grasas producía un crecimiento muy pobre de los animales, una dermatitis severa especialmente en la cola, pérdida del pelaje, emaciación, y finalmente la muerte.

Estudios realizados con anterioridad por otros investigadores no permitieron llegar a la observación de los Burr, debido, probablemente, a que no se contaba con procedimientos químicos para separar la grasa del resto de los componentes de la dieta y así obtener dietas carentes de materias grasas. Aunque Burr y Burr no pudieron identificar qué componentes específicos de la grasa eran responsables de los efectos de la dieta carente de grasa, observaron que la adición de una cantidad tan diferente como un 2% o un 20% de grasa de origen animal a la alimentación de las ratas prevenía los efectos derivados de la carencia, por lo cual, concluyeron que el "componente que faltaba" se requería en muy pequeña cantidad. La grasa utilizada por los Burr contenía un 15% de ácido esteárico, un 25% de ácido palmítico, un 50% de ácido oleico y un 10% de ácido linoleico.

Más tarde, con el advenimiento de técnicas más finas para la separación y el análisis de los ácidos grasos, como la cromatografía gasesosa, que permite la identificación, separación y determinación cuantitativa de los ácidos grasos, se demostró que era el ácido linoleico el componente deficitario en la dieta que causaba las alteraciones observadas en las ratas. Sin embargo, esta importante observación no fue asociada a la nutrición humana, estimándose que era sólo válida para mamíferos no humanos y en particular sólo para las ratas. Fue necesario que transcurrieran 35 años para que se demostrara una evidencia clara de la necesidad de ciertos ácidos grasos en la dieta humana. Un grupo de pediatras encabezado por Hansen *et al.* elaboró un protocolo en el cual 428 lactantes fueron alimentados durante un año con leches que contenían diferentes tipos de grasa. Utilizaron mezclas de leche con grasa vegetal hidrogenada, grasa láctea, y aceite de maíz. Los grupos que recibieron grasa hidrogenada y grasa láctea comenzaron a mostrar prematuramente una menor ganancia de peso y alteraciones en la piel en relación con las calorías consumidas. El grupo que consumió aceite de maíz mostró una mejor ganancia de peso y ausencia de alteraciones dermatológicas.

Cuando a los dos grupos carenciales se les adicionó una pequeña cantidad de ácido linoleico y de ácido araquidónico, se normalizó el aumento de peso en relación con las calorías ingeridas, y desaparecieron las alteraciones dermatológicas. Ésta fue la primera demostración de la importancia del ácido linoleico, y de su derivado de mayor tamaño de cadena, el ácido araquidónico, como un ácido graso esencial (AGE).

2. Los ácidos grasos esenciales y sus derivados en la nutrición humana

Existen tres series o familias de ácidos grasos que se originan de la posición del o de los dobles enlaces en la estructura hidrocarbonada. La nomenclatura estándar (según IUPAC) enumera los ácidos grasos considerando el carbono que posee la función ácida o carboxílica como carbono 1, y así enumera sucesivamente los carbonos hasta alcanzar el grupo metilo terminal. La ubicación de los dobles enlaces según dicha nomenclatura se identifica con el símbolo delta ( ). Sin embargo, si bien esta notación es útil para la identificación química de los ácidos grasos, no lo es para el análisis de sus efectos biológicos. Cuando los ácidos grasos se utilizan con fines metabólicos a nivel celular, por ejemplo, cuando se oxidan, esta oxidación va ocurriendo en unidades de dos carbonos (β-oxidación) y a partir del carbono 1. Por lo cual, en la medida que el ácido graso se va oxidando, va acortando su cadena hidrocarbonada y va cambiando su notación, siendo imposible identificar adecuadamente sus productos metabólicos.

Holman, un discípulo de los Burr, introdujo una notación diferente. Propuso enumerar los ácidos grasos desde su extremo metilo terminal, es decir, al revés que la notación IUPAC. De acuerdo con esta nueva notación, la oxidación de un ácido graso no produce un cambio en la enumeración de sus carbonos. Como el metilo terminal es en realidad el extremo de la molécula, Holman lo designó como carbono omega (ω) (o "n", como notación alternativa y utilizada en este texto), última letra del alfabeto griego. Al observar la estructura de los ácidos grasos insaturados según esta nomenclatura, se concluye que existen tres grandes grupos de ácidos grasos según la posición de su (o sus) doble(s) enlace(s). Un grupo cuyo primer doble enlace está entre el carbono 9 y el 10, identificado como perteneciente a la serie o familia ω-9 o n-9, y cuyo principal componente es el ácido oleico (18:1 n-9, AO). Un segundo grupo de ácidos grasos posee su primer doble enlace entre los carbonos 6 y 7, y se identifica como perteneciente a la serie o familia ω-6 o n-6. El principal componente de esta serie es el ácido linoleico (18:2 n-6, AL). Finalmente, un tercer grupo de ácidos grasos posee su primer doble enlace entre los carbonos 3 y 4 y se identifica como serie o familia ω-3 o n-3. El ácido graso más importante de esta familia es el ácido α-linolénico (18:3 n-3, ALN). Las familias n-9, n-6 y n-3 no son las únicas, ya que en la naturaleza se encuentran, además, los ácidos grasos n-7 y n-11, pero son minoritarios. La **Figura 1** muestra las tres familias o series de ácidos grasos más importantes, n-9, n-6 y n-3.

3. Bases moleculares y bioquímicas de la esencialidad

El AO, AL y ALN originan, por procesos de elongación y desaturación, ácidos grasos de mayor tamaño de cadena y con mayor grado de insaturación, que se identifican como ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPICL). La transformación de los precursores (AO, AL y ALN) en AGPICL ocurre principalmente en el retículo endoplasmático celular (microsomas) en una primera etapa y posteriormente en los peroxisomas (en el caso de la serie n-3), y es catalizada por enzimas identificadas genéricamente como elongasas (aumentan el tamaño de la cadena hidrocarbonada) y desaturasas (introducen nuevos dobles enlaces). El proceso de transformación más crítico es la desaturación. Los vegetales pueden desaturar ácidos grasos saturados en las posiciones n-9, n-6 y n-3, por lo cual pueden biosintetizar AO, AL y ALN a partir de ácidos grasos saturados o de menor insaturación. Los animales, particularmente los vertebrados (entre ellos, los mamíferos), sólo pueden introducir insaturaciones a partir del carbono n-9 en adelante (hacia el grupo carboxilo). No pueden desaturar en las posiciones n-6 y n-3. Por esta razón, para los mamíferos el AL y el ALN son AGE, ya que al existir estos impedidos de sintetizarlos a partir de precursores de menor insaturación, deben estar presentes en la dieta en determinada cantidad y proporción entre ellos. El AO no es un ácido graso esencial para los mamíferos, ya que puede ser formado a partir del ácido esteárico (18:0, AE). De ello se deduce que la principal fuente de AGE para el mundo animal la constituyen los alimentos provenientes del reino vegetal. Las hojas verdes son una fuente de AL y de ALN, en tanto que las semillas y los frutos aportan cantidades mayores de AL que de ALN.

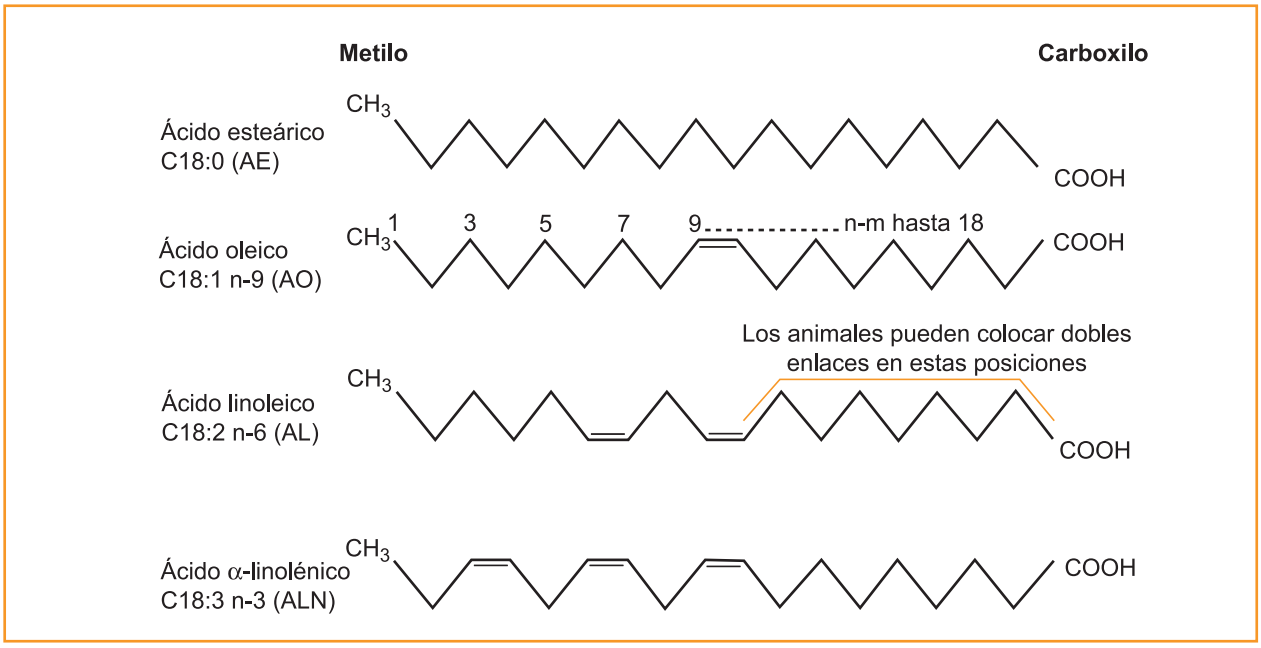


Figura 1. *Familias o series de ácidos grasos y su nomenclatura "n".*

4. Metabolismo de los AGE y de los AGPICL, interrelaciones y regulación

El AO, AL y ALN son elongados y desaturados por el mismo sistema enzimático microsomal que los transforma en derivados de mayor tamaño de cadena (hasta 24 carbonos) y mayor grado de insaturación (hasta 6 dobles enlaces). Las enzimas más importantes en este proceso son la -5 desaturasa y la -6 desaturasa. Particularmente, la -6 desaturasa es un importante punto de regulación del proceso de desaturación/elongación, ya que su actividad es controlada por diferentes metabolitos, en particular, por algunas hormonas, como la insulina, y por los productos finales del proceso (AGPICL de 20 y 22 carbonos). La afinidad de la Δ-6 desaturasa por los diferentes ácidos grasos es muy distinta. La afinidad por el ALN es mucho mayor que por AL, por lo cual, si el aporte nutricional de ALN es muy alto, se va a dificultar la formación de los derivados del AL de mayor insaturación. Por el contrario, si el aporte nutricional de AL es muy grande comparado con el de ALN, como suele ocurrir en la nutrición del mundo occidental, la transformación del ALN en sus derivados será sólo marginal. No existe una conversión de ácidos grasos n-6 a ácidos grasos n-3 en los mamíferos, ya que éstos carecen de una Δ-3 desaturasa que sí poseen otros organismos animales (invertebrados, principalmente). La afinidad del AO por la -6 desaturasa es muy inferior a la de AL y ALN, por lo cual sus productos de desaturación sólo se formarán en una cantidad significativa cuando el aporte de AL y de ALN de la dieta es muy bajo o inexistente.

La mayor especificidad de la Δ-6 desaturasa por el ALN se observa por el hecho de que basta un aporte menor al 2% de las calorías como ALN para que se inhiba casi totalmente la conversión del AL en sus derivados de mayor insaturación y tamaño de cadena. Por el contrario, se requiere una concentración 10 veces mayor de AL para inhibir totalmente la transformación del ALN en sus respectivos AGPICL. Para suprimir en un 50% la transformación del AL en ácido araquidónico (20:4 n-6, AA), se requiere un aporte de ALN de sólo el 0,5% de las calorías. En cambio, para reducir en un 50% la transformación del ALN en ácido eicosapentaenoico (20:5 n-3, EPA) se requiere un aporte de AL equivalente al 7% de las calorías. Para que la inhibición ejercida por el AL y el ALN sea equivalente, se requiere una proporción en peso de 14:1 de ambos AGE. Sin embargo, no significa

que con esta proporción se obtengan los beneficios metabólicos óptimos para ambos ácidos grasos. Estudios realizados por muchos grupos de investigación estiman que la relación óptima de ácidos grasos n-6:n-3 en la dieta debe estar en torno a 5:1 o 10:1 como máximo. Si la transformación del AL y del ALN en sus respectivos AGPICL es totalmente inhibida (por un efecto carencial experimental), se formará una alta proporción de un AGPICL derivado de la serie n-9, el ácido eicosatrienoico (20:3 n-9), como un efecto compensatorio a la imposibilidad de formar AGPICL n-6 y n-3. Esto constituye una clara indicación de la necesidad de nuestro organismo de contar con AGPICL para sus requerimientos metabólicos.

La última etapa del proceso de elongación y de desaturación microsomal de los AGE conduce a la formación de un ácido graso de 24 carbonos y 5 insaturaciones (24:5 n-6) a partir del AL, y de un ácido graso de 24 carbonos y 6 insaturaciones (24:6 n-3) a partir del ALN. La enzima que realiza esta desaturación es también una Δ-6 desaturasa y cumple una función similar a la enzima que realiza la desaturación del 18:2 n-6 y del 18:3 n-3. Ambas enzimas han sido clonadas y muestran una gran similitud estructural, por lo cual se estima que corresponden a una misma entidad molecular. Tanto el 24:5 n-6 como el 24:6 n-3 deben ser transportados a los peroxisomas, donde sufren una β-oxidación parcial que los transforma, respectivamente, en el ácido docosapentaenoico (22:5 n-6, DPA), producto final de la biotransformación del AL, y en el ácido docosahexaenoico (22:6 n-3, DHA), producto final de la biotransformación del ALN. La formación peroxisomal del 22:5 n-6 y del 22:6 n-3 a partir del 24:5 o del 24:6 se denomina retroconversión y ocurre fundamentalmente en cuatro etapas: la reacción del ácido graso acil-CoA-derivado con una enzima acil-CoA oxidasa, una doble etapa de oxidación que requiere de la proteína D-bifuncional peroxisomal, y finalmente la acción de la enzima tiolasa peroxisomal que separa dos carbonos del 24:5 n-6 o del 24:6 n-3 para convertirlos en el 22:5 n-6 y 22:6 n-3, respectivamente (en la forma de acil-CoA-derivados). De esta forma, los peroxisomas tienen un rol fundamental en la formación de los productos finales de los AGE. No existe evidencia experimental de la transformación del AO a productos de mayor tamaño de cadena que el ácido eicosatrienoico (20:3 n-9).

La transferencia del 24:6 n-3 a los peroxisomas parece ser un paso forzado, ya que el producto final de esta vía metabólica será siempre el DHA. En cambio, no parece ocurrir lo mismo con el 24:5 n-6. La retroconversión de este ácido graso sólo ocurrirá cuando la disponibilidad nutricional de ALN sea muy baja. El producto metabólico más importante del AL es el AA; sin embargo, bajo una situación carencial de ALN, el 24:5 n-6 será convertido en los peroxisomas a DPA, acumulándose en los tejidos en reemplazo del DHA, principalmente en el tejido nervioso. La **Figura 2** muestra la vía de desaturación y de elongación del AO, AL y ALN y la formación de sus respectivos productos.

5. Rol de los AGE y sus derivados en el funcionamiento del organismo

Más del 95% del AL que aporta la dieta es oxidado en la mitocondria con la finalidad de obtener energía y sólo un pequeño porcentaje es transformado en AA, el principal producto metabólico de la familia n-6. La transformación del AL en AA ocurre principalmente en el hígado, desde donde es transportado hacia los tejidos periféricos, incorporado a los fosfolípidos y a los triglicéridos que forman las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). También es transformado en un lisofosfolípido (principalmente como sn-2 araquidonil fosfatidilcolina), que se transporta ligado a la albúmina plasmática. Ambos sistemas de transporte permiten que el ácido graso se distribuya prácticamente a todos los tejidos. El AA transportado en la forma de lisofosfolípidos sería especialmente dirigido al cerebro, ya que ésta es la forma de mayor biodisponibilidad para el transporte de AGPICL a través de la barrera hemato-encefálica. También existe cierta especificidad para dirigir el AA al órgano visual y a los testículos, aunque no está claro si el transporte ocurre a través de un lisofosfolípido. La placenta es particularmente permeable a la albúmina que transporta lisofosfolípidos que contienen AGE.

El ALN que aporta la dieta es también oxidado en un alta proporción (sobre el 85%), y el resto se transforma en DHA, su principal producto metabólico final. El ALN se transforma en DHA, principalmente en el hígado, y desde este órgano sería

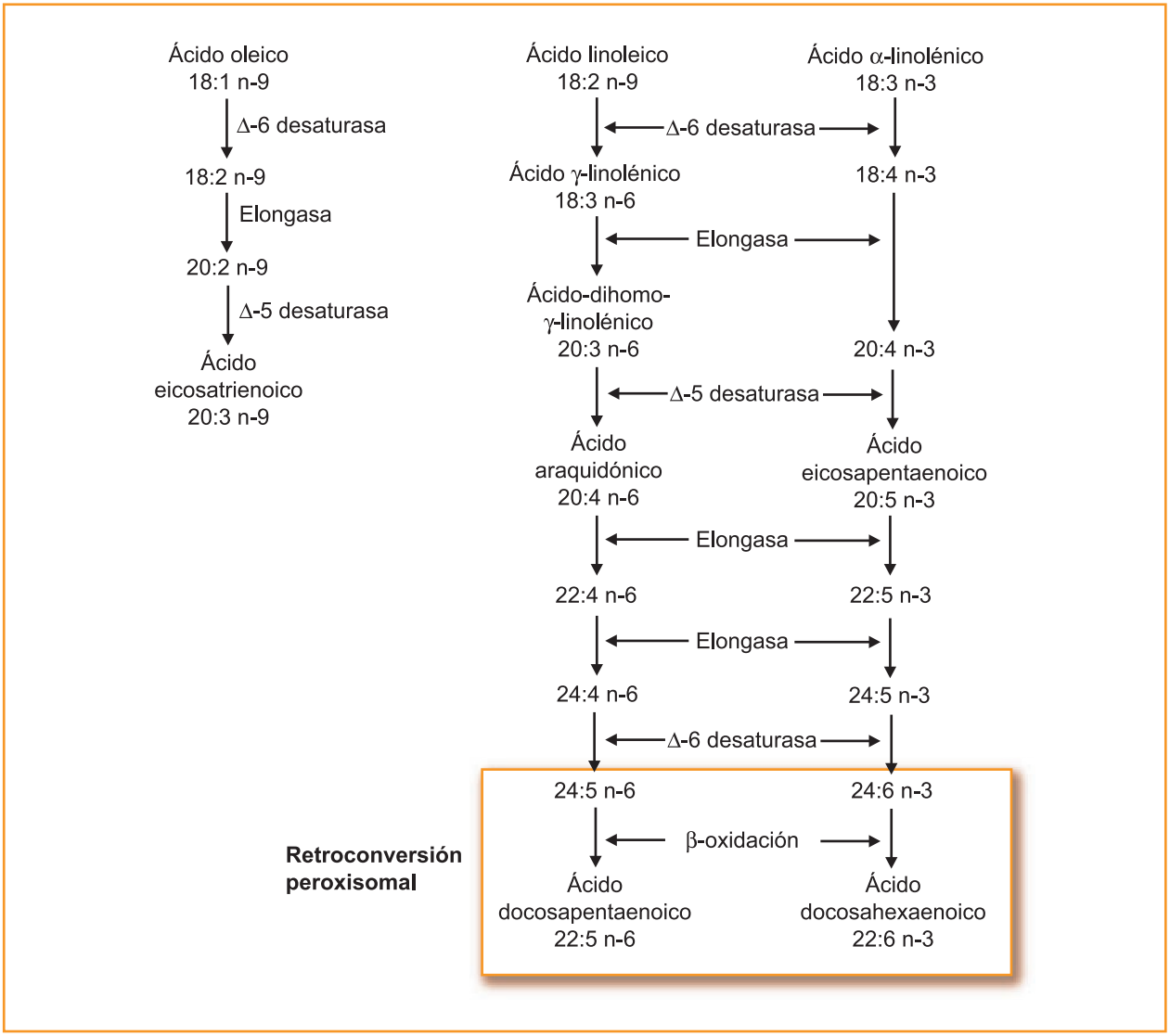


Figura 2. *Vía de desaturación y de elongación del ácido oleico, el ácido linoleico y el ácido α-linoléico.*

transportado de la misma forma que el AA como un lisofosfolípido a través de la albúmina plasmática casi exclusivamente al cerebro, al órgano visual y a los testículos. Esto, debido a que la retina, el cerebro y los espermios son los tejidos que acumulan la mayor cantidad de DHA. Las VLDL de origen hepático no transportan DHA, lo que marca una diferencia con el transporte del AA. Se ha propuesto que el DHA se acumularía en el tejido adiposo, su principal reservorio junto con el hígado, mediante un mecanismo de transporte que involucra también a los lisofosfolípidos. Un producto intermedio de la transformación del ALN en DHA es el ácido eicosapentaenoico (20:5 n-3, EPA), el cual tiene importantes funciones fisiológicas que serán discutidas más adelante. Sin embargo, las funciones del EPA serían sólo relevantes cuando este ácido graso se consume como tal (a partir de fuentes marinas o de suplementos, p. ej.), ya que su principal destino cuando se forma a partir del ALN en los microsomas es su transformación en DHA. Recientemente se ha propuesto que la mitocondria tendría, además del peroxisoma, la capacidad para formar DHA a partir del 24:6 n-3. Esta retroconversión sería exclusiva para los derivados n-3 y no para los n-6, y ocurriría principal-

mente en el cerebro, particularmente en los astrocitos de la glía.

El AA producido por el hígado ocupa preferentemente la posición sn-2 (posición central) de los fosfolípidos y triglicéridos de origen hepático y que son transportados por las VLDL, por lo cual el ácido graso no es liberado por la enzima lipoproteína lipasa vascular (LPL), ya que esta enzima sólo hidroliza las posiciones sn-1 y sn-3 de los triglicéridos y fosfoglicéridos. La posterior transformación de la VLDL en LDL, y la captación de esta lipoproteína por los tejidos, permite que el AA quede disponible intracelularmente para realizar sus funciones metabólicas. El ácido graso es incorporado casi en su totalidad a los fosfolípidos que forman las membranas celulares, particularmente la membrana plasmática. Estos fosfolípidos son principalmente la fosfatidilcolina, la fosfatidiletanolamina, la fosfatidilserina y la esfingomielina, y en menor cantidad los fosfolípidos del inositol. El AA puede ser liberado desde los fosfolípidos por la acción de la enzima fosfolipasa A_2, dando origen, dependiendo del tipo de célula y del tipo de fosfolipasa A_2 que actúe sobre el, a una serie de productos metabólicos de gran actividad biológica identificados genéricamente como eicosanoides (por poseer 20 átomos de carbono) (*ver Capítulo 1.4*).

La transformación de los eicosanoides en los derivados metabólicos que se identifican más adelante se conoce como la "cascada de los eicosanoides". La acción de la enzima ciclooxigenasa sobre el AA forma primero endoperóxidos, los cuales, por oxidación posterior, dan origen a los productos metabólicos conocidos genéricamente como prostaglandinas, siendo los más importantes las prostaglandinas (propiamente dichas), los tromboxanos y las prostaciclinas. La enzima ciclooxigenasa transforma en las plaquetas al AA en tromboxanos de la serie 2 (TXA_2), y en las células endoteliales el AA es convertido en prostaglandinas de la serie 2 (PGI_2) y en prostaciclinas de la serie 2 (PCI_2). Por otro lado, en los leucocitos el AA es transformado por la enzima lipooxigenasa en los leucotrienos de la serie 4 (LT_4). Los TXA_2 ejercen un poderoso efecto estimulante de la agregación plaquetaria y son vasoconstrictores. Por el contrario, las PCI_2 liberadas por las células endoteliales tienen un efecto inhibidor de la agregación plaquetaria y son vasodilatadoras. La homeostasis vascular depende del adecuado equilibrio en la formación de TXA_2 y PCI_2. Los LT_4 liberados por los leucocitos ejercen efectos proinflamatorios y quimiotáxicos, y estimulan la adhesión celular. Las PGI_2 regulan procesos inflamatorios y la liberación de citokinas. De esta forma, los ácidos grasos n-6, a través del AA, pueden ejercer importantes efectos reguladores en la homeostasis celular a través de las prostaglandinas, prostaciclinas y tromboxanos de la serie 2 y de los leucotrienos de la serie 4.

Los ácidos grasos n-3 también participan de la cascada de los eicosanoides a partir del EPA. Este ácido graso, principalmente de origen dietético, puede ser almacenado en el hígado a partir de los quilomicrones remanentes que capta este tejido y que transportan los lípidos de la dieta. El EPA ocupa generalmente la posición sn-2 de los fosfolípidos y triglicéridos de origen marino que forman parte de nuestra dieta, por lo cual no es liberado por la LPL vascular, retornando así al hígado. Este EPA es "exportado" por el hígado en la misma forma que el AA, con el cual potencialmente puede competir en la formación de los fosfolípidos de las membranas celulares. Al ser liberado por la acción de la fosfolipasa A_2, el EPA participa en la cascada de los eicosanoides, dando origen por la acción de la enzima ciclooxigenasa a los tromboxanos de la serie 3 (TX_3), a las prostaglandinas de la serie 3 (PGI_3) y a a las prostaciclinas de la serie 3 (PCI_3). La enzima lipooxigenasa, a su vez, transforma el EPA en los leucotrienos de la serie 5 (LT_5). Los productos de la acción de la ciclooxigenasa y de la lipooxigenasa sobre el EPA tienen generalmente muy poca actividad biológica o presentan efectos antagónicos a los productos de las mismas enzimas sobre el AA. Es así como los TXA_3 plaquetarios son biológicamente inactivos, las PCI_3 formadas en las células endoteliales tienen efectos inhibidores de la agregación plaquetaria y son vasodilatadoras. Las PGI_3 presentan escasa actividad biológica, y los LT_5 formados en los leucocitos tienen efectos antiinflamatorios e inhiben la quimiotaxis y la adhesión celular. De esta forma, se produce una competencia entre los productos del metabolismo de los ácidos grasos n-6 (AA) y de los ácidos grasos n-3 (EPA), cuyas consecuencias en la salud cardiovascular se discutirán en el próximo apartado. La **Figura 3** muestra las transformaciones metabólicas de los AGE n-6 y n-3 que conducen a la formación de los eicosanoides, y la **Figura 4** muestra sus efectos antagónicos en la homeostasis vascular (*ver Capítulo 1.4*).

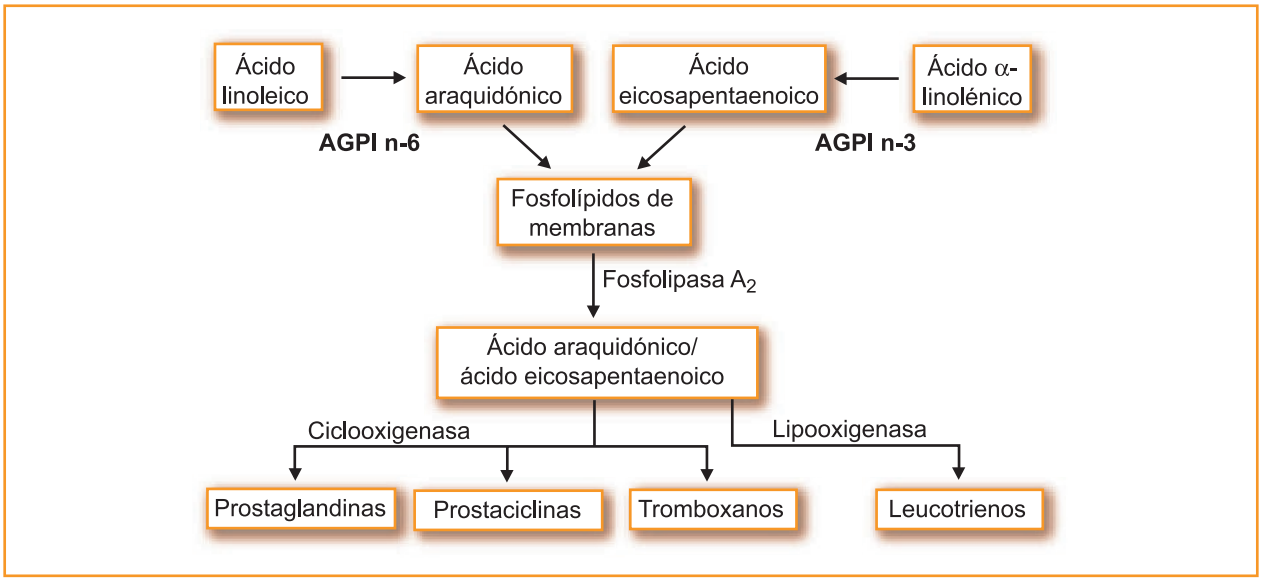


Figura 3. *Transformaciones metabólicas, a través de la cascada de los eicosanoides, de los AGE n-6 y n-3.*

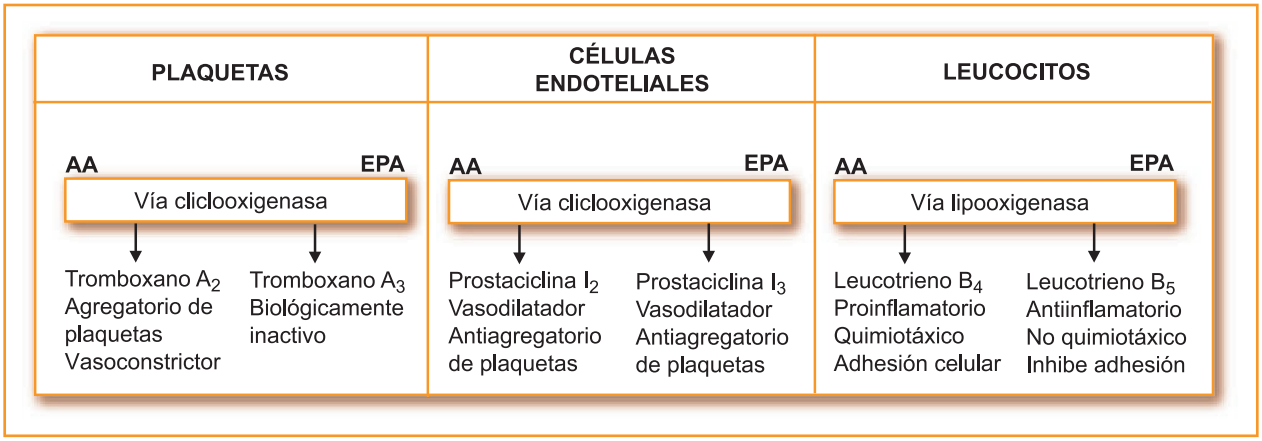


Figura 4. *Efectos metabólicos de los tromboxanos y prostaciclinas de las series 2 y 3 y de los leucotrienos de las series 4 y 5.*

6. Los AGE en la regulación de la expresión de genes

Existe evidencia de que los AGE pueden regular la expresión de ciertos genes, ya sea por estimulación o por inhibición de la formación de sus productos de expresión (RNA y proteínas). Por ejemplo, los ácidos grasos n-6 y n-3 inhiben la transcripción de genes que codifican la síntesis de enzimas clave de la lipogénesis hepática. En cambio, estos mismos ácidos grasos estimulan la transcripción de enzimas involucradas en la β-oxidación mitocondrial, como, por ejemplo, la síntesis de la enzima carnitina palmitoiltransferasa I. Se han identificado numerosos genes cuya expresión es regulada por los ácidos grasos n-6 y n-3, siendo algunos de ellos los que codifican las enzimas acetil-CoA carboxilasa, piruvato kinasa, sintetasa de ácidos grasos, estearoil-CoA desaturasa y el transportador GLUT 4. La inhibición de la adipogénesis que ejercen los AGE ha sido también relacionada con el efecto de estos nutrientes en la expresión de genes involucrados en la síntesis y degradación de ácidos grasos (*ver Capítulo 1.31*).

El mecanismo mediante el cual los AGE ejercen efectos de estimulación de la expresión de ge-

nes se relaciona con su acción como ligandos de las proteínas receptoras de activadores de la proliferación peroxisomal, identificadas genéricamente como PPAR (***P**eroxysome **P**roliferator-**A**ctivated **R**eceptors*). Los PPAR constituyen una superfamilia de receptores nucleares que media los efectos, a nivel del control de la expresión génica, de las hormonas esteroideas, de los glucocorticoides, de la tiroxina, del ácido retinoico, y de la vitamina D. Se conocen tres isoformas de los PPAR, denominadas α, β y γ, y que son codificadas por genes individuales con alto grado de similitud estructural. El PPAR-α se expresa principalmente en el hígado, el tracto digestivo, en la glándula adrenal y en el riñón. El PPAR-β se expresa prácticamente en todos los tejidos, aunque sus niveles son comparativamente mayores en el músculo cardiaco y en el tejido nervioso (particularmente en el cerebelo). El PPAR-γ se expresa predominantemente en el tejido adiposo pardo y blanco, y en niveles más bajos en el bazo, intestino y ganglios linfáticos. Los ligandos, al unirse a los PPAR, los transforman en activadores transcripcionales, los cuales, al asociarse al receptor del ácido 9-*cis* retinoico (RxR) (otro activador transcripcional), forman un heterodímero que se une a secuencias específicas del DNA, presentes en los genes bajo control, y estimulan la transcripción del o de los genes controlados por estas secuencias. Recientemente, se ha identificado que los AGPI y los AGPICL de la serie n-6 y n-3, y también los eicosanoides derivados de éstos, pueden unirse específicamente a PPAR, actuando así como reguladores de la expresión de genes. El AL, el DHA, el AA y el leucotrieno B_4 son activadores del PPAR-α. El PPAR-β es activado sólo por el AL y el DHA, en tanto que el PPAR-γ es solamente activado por el DHA.

El efecto de los AGE como ligandos de PPAR podría estar vinculado a numerosas funciones bioquímicas de estos ácidos grasos aún desconocidas. La activación del PPAR-α estimula la oxidación de ácidos grasos en tejidos que se caracterizan por su alta utilización de ácidos grasos como sustratos energéticos (hígado, corazón, riñones, tejido adiposo pardo), proceso que podría ser estimulado por los AGE que actúan como ligandos del PPAR-α. Por otro lado, el PPAR-γ regula la diferenciación de las células precursoras de los adipocitos y favorece la acumulación de triglicéridos en los adipocitos.

Recientemente se ha propuesto que solamente los efectos estimulantes de la transcripción de genes producida por los AGE es mediada a través de los PPAR. Los efectos inhibidores de la transcripción ejercidos por los AGE serían PPAR-independientes. Esto significa que podrían existir factores específicos de regulación para producir la inhibición de la transcripción por los AGE, diferentes de los PPAR. Incluso, se postula que el o los ligandos de los PPAR no serían los AGE como tales, sino algunos metabolitos de éstos, como los eicosanoides. El efecto inhibidor de la diferenciación de los preadipocitos a adipocitos que producen los AGE de las series n-6 y n-3 es regulado por prostaglandinas que no utilizan los PPAR como factores de regulación de la expresión génica. De cualquier forma, éste es un campo aún poco conocido, y en los próximos años se esperan importantes avances en la comprensión del rol de los AGE en la regulación de la expresión de genes como ligandos de PPAR. La **Figura 5** esquematiza el efecto de los AGE n-6 y n-3 sobre la expresión de genes activados por PPAR.

El tipo de ácidos grasos de la dieta guarda estrecha relación con la actividad de los PPAR como reguladores transcripcionales. Es así como dietas ricas en ácidos grasos saturados e isómeros *trans* y que aportan bajas cantidades de AGE n-6 y n-3 producen diferentes efectos a nivel de los distintos PPAR. La falta de estimulación del PPAR-α por ligandos derivados de AGE produce una disminución de la β-oxidación mitocondrial y también de la β-oxidación peroxisomal. Al inhibirse la β-oxidación mitocondrial aumenta la disponibilidad de ácidos grasos para depósito. La inhibición de la β-oxidación peroxisomal impide la formación de AGPICL, en particular de DHA. Además, la falta de estímulo sobre el PPAR-γ disminuye el efecto inhibidor de este factor transcripcional sobre la adipogénesis, con lo cual se produce el efecto contrario, un aumento de la adipogénesis. Como consecuencia del desequilibrio en el aporte de AGE, se modifica la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos de las membranas celulares, ya que la menor disponibilidad de AA, EPA o DHA producirá cambios en la respuesta de receptores y enzimas cuya actividad está asociada a las membranas. Estas modificaciones a nivel molecular tienen su expresión en estados metabólicos alterados, como es el aumento de la resistencia a la insulina, lo cual a su vez redunda en un mayor riesgo de patologías como la obesidad, la diabetes tipo II y las

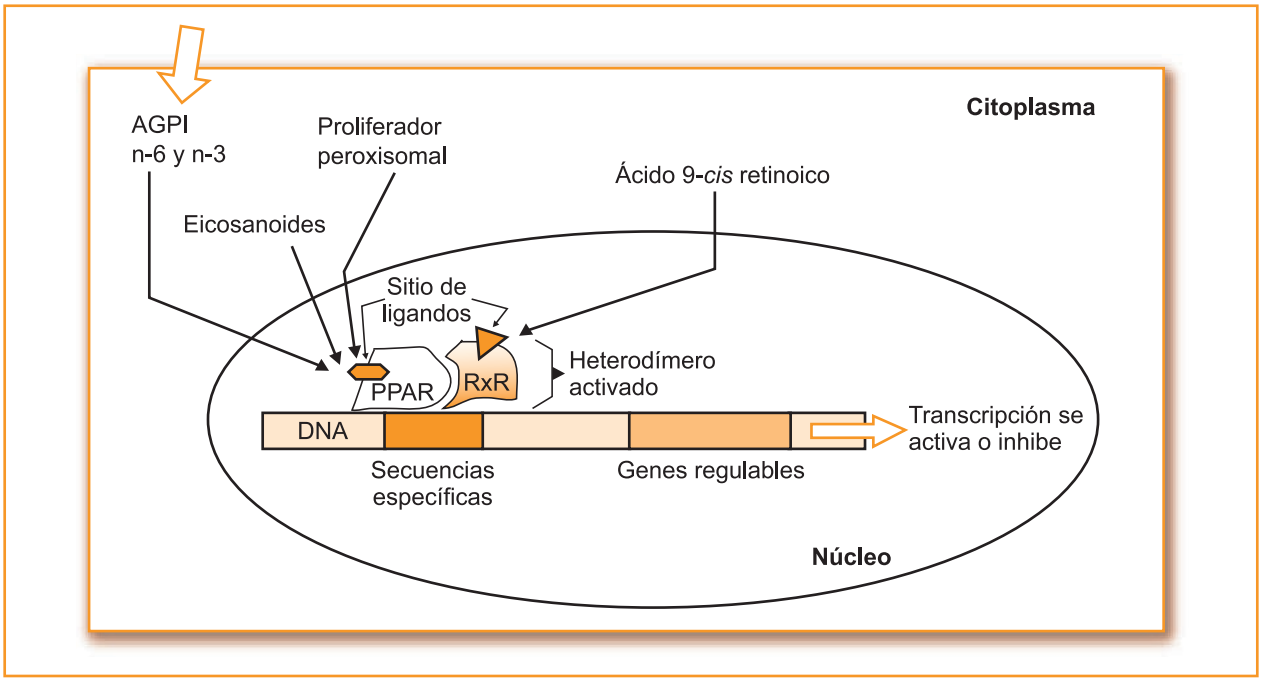


Figura 5. *Efecto de los AGPI n-6 y n-3 en la activación de genes activados por proliferadores peroxisomales (PPAR).*

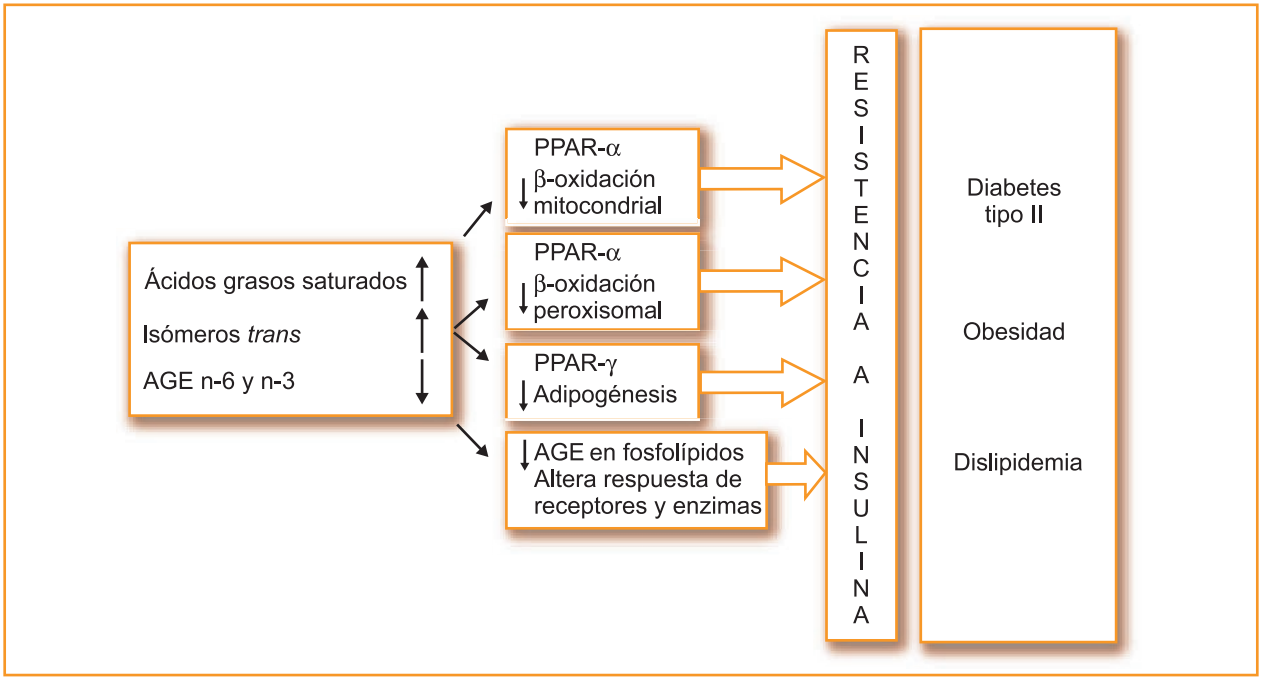


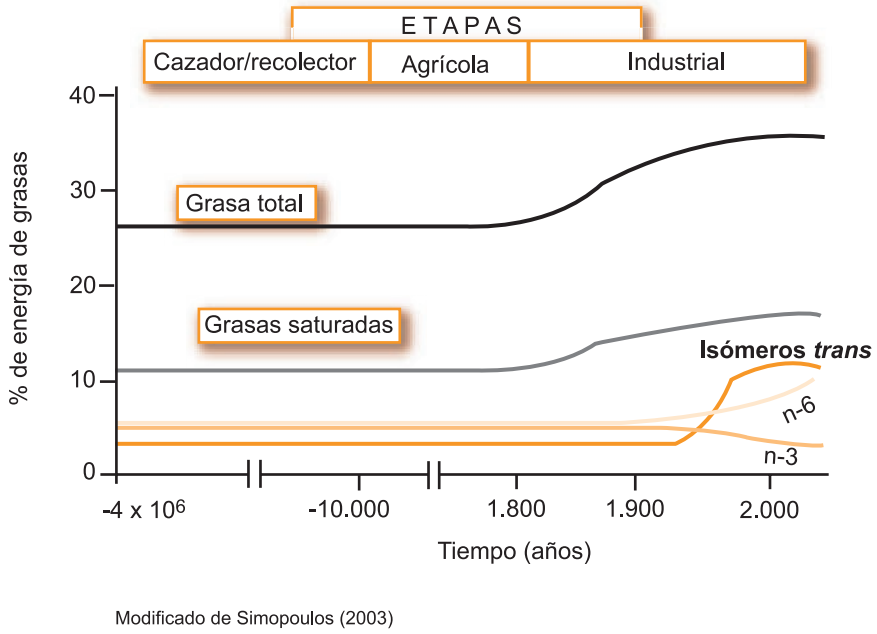
Figura 6. *Efecto de los ácidos grasos saturados, isómeros trans y de un bajo aporte de AGE n-6 y n-3 en la actividad de PPAR.*

dislipidemias. La **Figura 6** resume los efectos de una dieta con bajo aporte de AGE n-6 y n-3 y alto aporte de ácidos grasos saturados e isómeros *trans* en la actividad de los PPAR y sus consecuencias en el desarrollo de patologías relacionadas con el metabolismo de los lípidos.

7. Fuentes dietéticas y disponibilidad de los AGE y sus derivados

La disponibilidad de AGE no ha sido la misma, y tampoco ha sido constante durante la evolución del hombre moderno. Cuando el hombre era un cazador-recolector, hace 40.000 años, su alimentación era particularmente abundante en carnes magras, peces, vegetales verdes, frutas, raíces y miel, alimentos que en su conjunto le aportaban una adecuada cantidad de AGE n-6 y n-3. La carne de animales terrestres le aportaba AL y AA. La carne de peces y otros productos del mar, EPA y DHA, y los vegetales verdes, AL y ALN. De esta forma, el aporte de AGE era muy equilibrado y prácticamente cercano a una relación 1:1 de AGE n-6 y n-3. Más aún, se estima que el consumo total de grasa en la dieta no superaba en promedio el 20% de su ingesta calórica. Los cereales se incorporaron a la alimentación del hombre hace 10.000 años, esto es, cuando comenzó la evolución de la agricultura. A partir de esta etapa, los humanos aprendieron a cultivar sus propios alimentos, y comenzó la domesticación de los animales, por lo cual su alimentación comenzó a provenir de los productos de su propia cosecha y de los animales de crianza (carne, leche, huevos). El advenimiento de la agricultura, si bien modificó el perfil nutricional del humano, ya que incorporó los cereales en la alimentación, particularmente el trigo, el maíz y el arroz, no produjo cambios sustanciales en la disponibilidad y en la cantidad de AGE, y de grasa total de su ingesta. Durante este periodo el aporte de AGE de la dieta era también cercano a una relación 1:1 entre ácidos grasos n-6 y n-3. Fue la Revolución Industrial, iniciada en la segunda mitad del siglo XIX, la que modificó sustancialmente la disponibilidad de los alimentos y la ingesta de AGE. Durante esta etapa el hombre desarrolló procesos para la obtención industrial de los alimentos y para su conservación en periodos largos. En el caso particular de las grasas, desarrolló procedimientos (prensado, extracción por solventes, cocción, destilación, etc.) para su obtención a partir de tejidos animales y de semillas vegetales. A partir de los tejidos animales y a través del procesamiento de grasa de depósito y/o de vísceras, se obtienen grasas y aceites con una composición alta de ácidos grasos saturados (AE principalmente) y monoinsaturados (AO), pero muy pequeñas cantidades de AGE. Los aceites de origen vegetal aportan mayoritariamente AO y AL y proporcionalmente pequeñas cantidades de ALN. Algunos aceites aportan ácido palmítico (16:0) y ácidos grasos saturados de menor tamaño de cadena (12:0 y 14:0). Más aún, el proceso de hidrogenación introducido industrialmente a comienzos del siglo XX, y desarrollado para lograr un mejor manejo y estabilidad de los aceites de origen vegetal y animal (aceites marinos, p. ej.), significó un aumento considerable de la disponibilidad de grasas para el procesamiento industrial de los alimentos, pero una disminución importante del aporte de AGE, ya que estos ácidos grasos por su mayor insaturación son los más afectados por la hidrogenación. La hidrogenación produce, además, isómeros *trans*, por lo cual el consumo de productos hidrogenados, muy comunes en nuestra alimentación, produjo un aumento del consumo de ácidos grasos con isomería *trans*, cuyos efectos en la salud son muy negativos. Los isómeros *trans* son aterogénicos y modifican la formación de los AGPICL derivados del AL y ALN, ya que inhiben la actividad de la Δ-6 desaturasa.

De esta forma, a partir de la Revolución Industrial comenzó en forma creciente a aumentar el consumo de grasas, hasta superar en algunos países el 40% de la ingesta calórica. Además, la masiva disponibilidad de aceites vegetales ricos en AL y de productos hidrogenados (sin aporte de AGE) produjo una notable desproporción en la relación de consumo de AGE n-6 y n-3, la cual, en algunos países, puede ser tan dispar como 16:1 o 20:1 entre AGE n-6 y n-3. También el mayor consumo de grasas hidrogenadas ha producido un importante aumento de la ingesta de isómeros *trans*. Además, el bajo consumo de productos del mar en algunos países hace más crítico el desequilibrio n-6:n-3, ya que, además del bajo consumo de ALN ya comentado, también consumen muy poco EPA y DHA. Esta desproporción afecta mucho más al mundo occidental que al oriental, ya que en estas poblaciones las tradiciones culinarias utilizan mucho los productos del mar (vegetales, peces y mariscos), que aportan cantidades significativas de EPA y DHA. La **Figura 7** muestra un esquema hipotético sobre la evolución del consumo de grasas y de AGE durante el desarrollo del hombre moderno, y la **Figura 8** muestra la distribución de ácidos grasos saturados, n-9, n-6 y n-3 de las principales grasas y aceites consumidos en el mundo occidental.



Modificado de Simopoulos (2003)

Figura 7. *Evolución del consumo de grasas, de AGE n-6 y n-3 y de isómeros* trans *durante el desarrollo del hombre.*

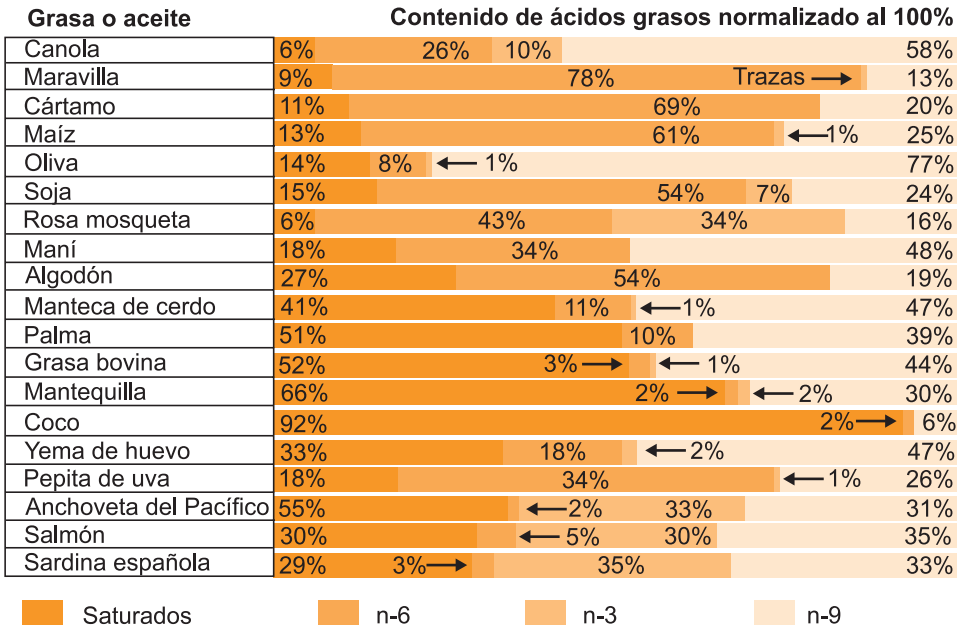


Figura 8. *Distribución de ácidos grasos saturados, n-9, n-6 y n-3 en las principales grasas y aceites consumidos en la nutrición occidental.*

8. Efectos bioquímicos funcionales del déficit de AGE (indicadores)

El efecto carencial de los AGE, identificado por los Burr, no fue fácilmente aceptado por la comunidad científica, ya que muchos pensaban que los efectos de carencia de AL sólo afectaban a las ratas y no a los humanos. El estudio de Hansen demostró la importancia del AL y del AA en la alimentación infantil, lo que fue validado por numerosos estudios posteriores. Sin embargo, había dudas sobre la esencialidad del AL en los adultos. Con la introducción de la nutrición parenteral total en la década de los 70, en la que originalmente sólo se aportaban aminoácidos e hidratos de carbono, fue posible observar en muchos pacientes los síntomas de carencia de AL, ya que éstos manifestaban síntomas de lesiones cutáneas muy similares a los descritos por los Burr en las ratas y por Hansen en los infantes. La adición de una pequeña cantidad de aceite de maíz eliminó rápidamente los síntomas. El organismo tiene la capacidad para acumular una cantidad importante de AL, por lo cual crear una situación de carencia requiere un largo tiempo (meses). Es probable que la función más importante del AL como un AGE sea, además de participar en la estructura de las membranas otorgándoles fluidez e impermeabilidad, permitir la formación de los eicosanoides a través de su derivado, el AA.

El caso del ALN es mucho más complejo, ya que sus requerimientos son muy pequeños (0,5% de la calorías), por lo cual sus efectos carenciales son más complejos de observar. La esencialidad del ALN se debería principalmente a que es el precursor del DHA, cuyas importantes funciones se comentan más adelante. El EPA, que también se forma a partir del ALN sólo sería un intermediario en la formación del DHA, y su participación en la formación de los eicosanoides, que antagonizan a los eicosanoides derivados del AA, sólo se obtendría a partir del EPA aportado directamente por la dieta (derivado del consumo de productos del mar, p. ej.).

El DHA se acumula casi exclusivamente en el tejido nervioso, en el tejido visual (una derivación del tejido nervioso) y en los testículos, por lo cual es deducible la importancia bioquímica del ácido graso en estos tejidos. El AA también se acumula en dichos tejidos, pero, como ya se comentó, también cumple funciones específicas en otros muchos. El DHA es importante para mantener la fluidez de las membranas, propiedad esencial para permitir la actividad de receptores, enzimas, transportadores, canales iónicos y de los procesos de transducción de señales propios de las células excitables, como las neuronas. En la retina el DHA se acumula principalmente en la membrana de los segmentos externos de las células que contienen los fotorreceptores (conos y bastoncitos), por lo cual el ácido graso participa activamente en el proceso de transformación del estímulo luminoso en una señal eléctrica que se realiza a través de la rodopsina con la intervención de canales de sodio y del GMP cíclico. La función del DHA en los testículos es aún poco clara, aunque se acumula particularmente en la membrana de los espermios, por lo cual se ha propuesto que participa en la capacitación espermática, proceso vinculado a la fecundación del óvulo.

La importancia del DHA ha sido estudiada particularmente en el cerebro y en la retina. El cerebro es un órgano principalmente lipídico, un 60% de su peso seco está compuesto por fosfolípidos y plasmalógenos y más de la mitad de ese porcentaje es DHA. Aunque la neurogénesis comienza ya a los pocos días posgestación, durante el último trimestre gestacional se produce un explosivo aumento del tamaño del cerebro, determinado por una neurogénesis muy activa, acompañada por procesos de migración neuronal, y el establecimiento de millones de sinapsis. El cerebro de un recién nacido posee alrededor de 100.000 millones de neuronas y trillones de sinapsis ya establecidas. La neurogénesis finaliza casi en su totalidad durante las primeras semanas de vida extrauterina (sólo continúa en el hipocampo), en cambio la sinaptogénesis es aún muy activa hasta la pubertad, decae en la edad adulta y es prácticamente inexistente en la vejez. El activo proceso de neurogénesis, de migración neuronal y de sinaptogénesis requiere de un aporte muy importante de AA y de DHA. Se ha propuesto que la capacidad del feto, y probablemente del recién nacido, para formar AA y DHA a partir de sus precursores no sería suficiente para cumplir con los requerimientos metabólicos de estos ácidos grasos. Por esta razón, dichos ácidos grasos son aportados por la madre, provenientes de sus propias reservas, de su capacidad de biosíntesis, y del aporte dietético. No ha sido posible aún evaluar la importancia relativa de estos procesos; sin embargo,

se estima fundamental el aporte de AL y de ALN a la madre durante el periodo gestacional, durante la lactancia e incluso antes del embarazo. La barrera hémato-encefálica es impermeable al ácido AE, al AO y al colesterol, pero es permeable al AL y ALN, además del AA y DHA. Las neuronas no tienen la capacidad para elongar y desaturar el AL y ALN. Esta función es realizada por los astrocitos (astroglias). La leche humana contiene una pequeña cantidad de AA y de DHA, por lo cual se ha sugerido que las fórmulas que reemplazan parcial o totalmente la lactancia materna deben ser adicionadas de AA y DHA en cantidades similares a las que aporta la leche humana. Esta práctica es común en los países europeos y asiáticos, y también ha sido incorporada recientemente en los Estados Unidos y Canadá.

La evidencia epidemiológica y clínica ha demostrado que el EPA produce efectos hipotrigliceridémicos, hipocolesterolémicos, vasodilatadores y antitrombóticos, por lo cual su consumo se ha relacionado con la protección de las enfermedades cardiovasculares (*ver Capítulo 4.19*). El EPA inhibe la secreción de VLDL por parte del hígado, lo cual se traduce en una disminución del colesterol-LDL. Además, el EPA produce una disminución del colesterol-HDL, efecto que podría ser considerado como no benéfico. Sin embargo, esta disminución podría ser el resultado de un estímulo por parte del EPA del transporte inverso del colesterol. El colesterol transportado por las HDL sería transferido al hígado a través de su captación selectiva por parte de los "receptores atrapadores (*scavengers*) tipo B1" (SRB1). Estos receptores transferirían en las células hepáticas el colesterol plasmático hacia la bilis, aumentando la secreción biliar de colesterol a través del aumento de la concentración de éste en la bilis. Se ha propuesto que el EPA aceleraría el traspaso del colesterol-HDL a las células hepáticas, estimulando la expresión del SRB1. Además de estos efectos, el EPA competiría con el AA con la formación de eicosanoides del tipo TXA_3, PGI_3 y LT_5, los cuales, al tener poca actividad biológica, disminuirían los efectos de los eicosanoides derivados del AA. De esta forma, la presencia de EPA en las membranas del epitelio vascular disminuye la agregación de las plaquetas y la quimiotaxis de los leucocitos, efectos que se traducen en una acción antitrombótica caracterizada para el consumo de este ácido graso (*ver Capítulo 1.4*).

9. Trastornos del metabolismo de los AGE de causas nutricionales y genéticas

Los efectos carenciales de los AGE, particularmente del AL, se observan principalmente en los recién nacidos y en los lactantes. El eczema atópico, por ejemplo, es un tipo de dermatitis hereditaria que se inicia durante el primer año de vida y, aunque remite con la edad hasta desaparecer casi totalmente con la pubertad, sensibiliza a los pacientes a diversas infecciones virales y reacciones alérgicas. Esta dermatitis es consistentemente un signo carencial de AGE y particularmente de ácido γ-linolénico (18:3 n-6, AGL), derivado del AL. Los pacientes muestran niveles plasmáticos de AL normales y no responden a la administración de AL, por lo cual la falla metabólica está en la conversión del AL en AGL a través de la Δ-6 desaturasa. El tratamiento con AGL restablece las condiciones normales de la piel.

La diabetes tipo II afecta la actividad de la Δ-6 desaturasa, ya que esta enzima es estimulada por la insulina, por lo cual la formación de los metabolitos derivados del AL y ALN es afectada en los pacientes diabéticos. La menor formación de AA y de DHA afecta a la estructura y función de las membranas de las células nerviosas y se ha propuesto que esta carencia sería una de las causas de las neuropatías que afectan a los pacientes de diabetes. La administración de AGL ha demostrado ser efectiva para prevenir, o al menos aminorar, el progreso de las neuropatías. Recientemente se ha demostrado que la administración de DHA a animales con diabetes experimental produce efectos más notorios que la administración de AGL. El DHA, al incorporarse a las membranas celulares, aumentaría la fluidez de éstas, facilitando, entre otros efectos, el movimiento y el reciclaje de los receptores para insulina, contribuyendo de esta manera a disminuir la resistencia a la insulina que caracteriza la diabetes de tipo II.

La importancia del AA y del DHA durante la nutrición perinatal ha sido atribuida principalmente a la funcionalidad del cerebro y de la visión. Estudios realizados tanto en ratones, ratas, primates, como en humanos han demostrado que los recién nacidos que reciben lactancia materna presentan mejores resultados en la aplicación de tests que miden

la inteligencia, la memoria, la capacidad de aprendizaje y la agudeza visual, que los grupos experimentales que no reciben lactancia materna y que son alimentados con fórmulas que no aportan AA y DHA (aunque sí AL y ALN). Por el contrario, aquellos grupos alimentados con fórmulas que contienen AA y DHA muestran comportamientos mejores que los grupos carenciales y muy similares a aquellos que reciben lactancia materna. Estas observaciones han motivado a recomendar la suplementación con AA y DHA de las fórmulas de reemplazo a la leche materna. En la actualidad el AA y el DHA pueden ser aportados a partir del ácido graso como tal (en la forma de ésteres etílicos), como triglicéridos obtenidos de microalgas, como fosfolípidos (provenientes de la yema de huevo), o como sn-2 monoglicéridos obtenidos a partir de aceites marinos tratados con enzimas estereoespecíficas de origen microbiano. Actualmente se sugiere que la madre debería recibir una suplementación con AA y DHA durante la etapa gestacional y de lactancia. Más aún se propone que idealmente esta suplementación debería ocurrir antes del embarazo. Puesto que los adultos pueden transformar el AL y ALN en AA y DHA en forma adecuada, bastaría una alimentación adecuada en su aporte de AL y de ALN para satisfacer los requerimientos de AA y de DHA derivados del embarazo y la lactancia.

El efecto de los AGPICL n-6 y n-3 no sólo se remite a su aplicación en el periodo perinatal. Se ha demostrado que el aporte de DHA a pacientes con Alzheimer y Parkinson disminuye considerablemente los efectos neurológicos de dichas enfermedades. Del mismo modo, el uso experimental de DHA en pacientes bipolares produce una importante disminución de la frecuencia de los periodos de crisis en estos pacientes. La administración de DHA a pacientes con trastornos del sistema nervioso abre una perspectiva muy interesante para la aplicación de AGE en patologías asociadas principalmente al envejecimiento del individuo y al retraso en la aparición de los síntomas de estas patologías con un adecuado manejo nutricional y farmacológico con AGE y sus derivados metabólicos.

La síntesis de AGCL n-3 se ve seriamente disminuida en enfermedades genéticas que afectan a la funcionalidad de los peroxisomas como es el caso del síndrome de Zellweger de origen neonatal, y de la adrenoleucodistrofia y la adrenomieloneuropatía, de aparición más tardía. En estas enfermedades, todas ellas mortales a corta edad, se produce una acumulación de 24:6, n-3 en el plasma y en los tejidos, particularmente en el tejido nervioso. Los pacientes muestran, además, una reducción importante del contenido de DHA cerebral. El origen de estas enfermedades se debería a la incapacidad del peroxisoma para realizar la β-oxidación del 24:6 n-3 para transformarlo en DHA. En estos pacientes estaría afectada la síntesis y posterior transporte al peroxisoma de la enzima acil-CoA oxidasa y/o de la proteína D-bifuncional (Zellweger) o a alteraciones en la estructura y la proliferación (por simple división) de los peroxisomas (adrenoleucodistrofia y adrenomieloneuropatía). El tratamiento de estos pacientes con DHA produce una disminución del progreso del daño neurológico que los afecta pero no revierte el daño. En la enfermedad de Refsum, otra neuropatía, la formación de DHA a nivel peroxisomal no está alterada, pero se encuentra disminuida la oxidación mitocondrial de ácidos grasos de cadena larga.

10. Cómo cumplir con las recomendaciones dietéticas de AGE, bajo condiciones de salud y enfermedad

Las recomendaciones de consumo de AGE n-6 y n-3 se enmarcan en las metas de ingesta de grasa para la población general. Estas recomendaciones se han formulado con la idea de incluir los países donde la ingesta habitual de grasas está por encima del 30% de la energía total, como también para aquellas poblaciones donde la ingesta habitual es muy baja (inferior al 15% de la energía total). Una ingesta de energía procedente de las grasas de al menos un 20% se considera compatible con un buen estado de salud. No obstante, los grupos de población con una marcada actividad física y con una alimentación rica en verduras, legumbres, frutas y cereales pueden tener una ingesta total de grasas de hasta un 35% de la energía sin exponerse a un aumento de peso y a efectos perjudiciales en la salud derivados del mayor consumo de grasa. Por otro lado, en poblaciones donde la ingesta habitual de grasas se sitúa entre el 15 y

Tabla 1. INGESTA ADECUADA DE ÁCIDOS GRASOS PARA LOS ADULTOS*

Ácidos grasos	g/día	% de energía
AL	4,40	2,00
AL (límite superior)	6,70	3,00
ALN	2,20	1,00
EPA + DHA	0,65	0,30
DHA (cantidad mínima)	0,22	0,10
EPA (cantidad mínima)	0,22	0,10
Isómeros *trans* (límite superior)	2,00	1,00
Ácidos grasos saturados	-	< 8,00
Ácidos grasos monoinsaturados	-	**

** Estimado para una dieta de 2.000 kcal/día.*
*** Se obtiene por diferencia del aporte de energía de las grasas.*

el 20% de la energía, no es recomendable aumentar el consumo de grasa hasta alcanzar las recomendaciones si el resto de la energía es aportada en forma equilibrada. En la actualidad se considera tan importante como la cantidad de grasa que se consume, la calidad de ésta, Entendiendo por tal el que contenga una adecuada cantidad y proporción de AGE n-6 y n-3, una adecuada cantidad de ácidos grasos monoinsaturados, una baja cantidad de ácidos grasos saturados, e idealmente ausencia de ácidos grasos con isomería *trans*. En base a estas recomendaciones, se han elaborado las metas actuales para la ingesta de grasa para la población en general. Estas metas se resumen en la **Tabla 1**, que muestra la recomendación de ingesta adecuada para los adultos de AGE, AGPICL n-3, así como los límites superiores de ingesta para los isómeros *trans* y los ácidos grasos saturados, expresados como g/día, y como porcentaje de la energía total, basado en una dieta de 2.000 kcal. La ingesta adecuada de ácidos grasos monoinsaturados se obtiene por diferencia del total de AGE, AGPICL n-3, isómeros *trans* y ácidos grasos saturados, por lo cual se deduce que, para una ingesta de grasa equivalente al 30% de la energía, los ácidos grasos monoinsaturados deben constituir el mayor aporte (aproximadamente el 24% de la energía). El bajo consumo de ácidos grasos *trans* sugerido para la ingesta adecuada de materias grasas constituye una indicación para evitar el consumo de alimentos que contienen grasa hidrogenada, como también la reutilización de los aceites utilizados en procesos de fritura.

Para el caso de los AGPICL, particularmente del EPA y del DHA, y debido a que su mejor fuente son los productos del mar, la recomendación para los adultos es el consumo regular de peces (1 o 2 raciones a la semana), especialmente de especies grasas (atún, salmón, sardina, etc.). Cada ración, en promedio, debería aportar 200-500 mg de EPA + DHA. El periodo gestacional determina un requerimiento importante de DHA por parte del feto, especialmente durante el último tercio del embarazo. Se sugiere que la madre reciba al menos 300 mg/día de DHA. Los vegetarianos absolutos deben cuidar su ingesta de AGE n-3, ya que, como se comentó anteriormente, este ácido graso es sólo aportado en pequeñas cantidades por algunos vegetales. El aporte de ALN puede ser compensado con el consumo de pequeñas cantidades de aceite de soja o de canola (*raps*).

Los recién nacidos que reciben lactancia materna satisfacen adecuadamente sus requerimientos de AGE, ya que la leche materna aporta en promedio 0,5-0,8% de AA y 0,2-0,4% de DHA. Las fórmulas de reemplazo de la leche materna tradicionalmente han sido suplementadas con AL y ALN; sin embargo, debido a que se estima que el recién nacido a término, y con mayor razón el prematuro, no es capaz de realizar adecuadamente la transformación del AL en AA y del ALN en DHA, se sugiere la incorporación de hasta un 1% de AA y de hasta un 0,70% de DHA. Estos AGE pueden ser aportados a partir de aceites obtenidos de microalgas, a partir de fosfolípidos de la yema de huevo o como ácidos grasos en la forma de etil-ésteres. Actual-

Tabla 2. RECOMENDACIÓN DE INGESTA ADECUADA DE AGE Y AGPICL n-6 Y n-3 PARA LOS LACTANTES QUE RECIBEN FÓRMULAS

Ácidos grasos	% del total de ácidos grasos
AL	10,00
ALN	1,50
AA	0,50
DHA	0,35
EPA (límite superior)	< 0,10

mente, no existe un consenso respecto a cuál es la forma más adecuada para proveer la suplementación, y se han desarrollado numerosos estudios clínicos con el propósito de demostrar el beneficio de una u otra forma de suplementación. La **Tabla 2** muestra la recomendación de ingesta adecuada de AGE n-6 y n-3 y de AGPICL n-6 y n-3 recomendada para las fórmulas expresada como porcentaje del total de ácidos grasos. Se estima que esta composición permite un crecimiento adecuado y un desarrollo del sistema nervioso comparable al que se obtiene a través de la lactancia materna.

Debido a que naturalmente los AGE n-6 son mucho más abundantes que los AGE n-3, se han realizado muchos esfuerzos a nivel de laboratorio de investigación, y también industriales, para buscar y optimizar nuevas fuentes de AGE n-3, especialmente los de cadena larga. Algunas cepas bacterianas y microalgas que se encuentran en la microbiota intestinal de los peces de agua salada tienen un alto contenido de EPA y DHA, por lo cual son utilizadas en condiciones de cultivo para la obtención de aceites ricos en EPA y especialmente en DHA. Algunos hongos y mohos son productores de altas concentraciones de AA, por lo cual constituyen en cultivo una muy buena fuente de este AGE. La alimentación de gallinas con raciones que aportan altas cantidades de ALN permiten obtener huevos con una alta concentración de DHA (aprox. 150 mg/huevo), por lo cual constituyen una muy buena fuente de suplementación de este ácido graso a bajo costo. Del mismo modo, la alimentación de pollos y de cerdos con aceites marinos desodorizados y parcialmente concentrados permite incrementar hasta en un 15% el contenido de DHA de la carne. Como ya se comentó, la conversión de ácidos grasos n-6 en ácidos grasos n-3 no es posible en los vertebrados; sin embargo, recientemente se incorporó el gen de una n-3 desaturasa proveniente del gusano invertebrado *Caenorhabditis elegans* en ratones transgénicos, con el resultado de que estos animales pueden acumular cantidades muy altas de DHA a partir del consumo de AL. Esta naciente tecnología abre grandes perspectivas hacia el desarrollo de nuevas fuentes de AGPICL n-3 con los cuales, a través de esta modificación genética, se podrá enriquecer con DHA y/o EPA la carne de animales o un sinnúmero de productos alimenticios manufacturados (leche, bebidas, cecinas, huevos, pan, etc.).

11. Resumen

- Los triglicéridos se sintetizan en el intestino con la grasa ingerida y en el hígado cuando hay exceso de energía. Los triglicéridos son transportados como lipoproteínas e hidrolizados en los endotelios vecinos a los tejidos. Los ácidos grasos libres son esterificados en el tejido adiposo, donde se almacenan como triglicéridos.

- La esencialidad de los ácidos grasos fue descubierta hace ya más de 70 años. Sin embargo, hubo de transcurrir mucho tiempo para que se pudiesen entender las razones bioquímicas y nutricionales de dicha esencialidad. La esencialidad de algunos ácidos grasos se refiere a características estructurales derivadas de su grado de insaturación y, particularmente, de la posición que ocupan estas insaturaciones en la molécula. Se les clasifica como ácidos grasos n-9, n-6 y n-3, siendo sólo esenciales aquellos que pertenecen a las series o familias n-6 y n-3. La esencialidad radica en la imposibilidad que tienen los humanos, y los mamíferos en general, para introducir instauraciones en las posiciones n-6 y n-3, por lo cual dichos ácidos grasos deben formar parte de nuestra alimentación en cantidades y proporciones que están relativamente establecidas.

- La alimentación de origen vegetal aporta ácidos grasos n-6 y n-3, además de ácidos grasos n-9, pero el tamaño está limitado al aporte de ácidos grasos no superiores a 18 carbonos y en una proporción sustancialmente mayor de ácidos grasos n-6 que de n-3. En cambio, los alimentos de origen marino, tanto vegetales como animales, aportan ácidos grasos n-3 de tamaño mayor y de mayor insaturación.

- La capacidad para formar ácidos grasos n-6 y n-3 de mayor tamaño a partir de los precursores aportados por la alimentación no es constante durante la vida del hombre, siendo limitante en las etapas gestacional y prenatal, que son aquellos periodos en los que se les requiere en mayor cantidad. De esta forma, el rol de la madre es de gran importancia, así como el tipo de alimentación que ésta reciba durante el periodo gestacional y de lactancia.

- Los ácidos grasos n-6 y n-3, particularmente aquéllos de mayor tamaño e insaturación, son requeridos para el desarrollo y la funcionalidad del sistema nervioso y visual. Del mismo modo, sus derivados, identificados como eicosanoides, y en la forma de prostaglandinas, prostaciclinas, tromboxanos y leucotrienos, están involucrados en el control de la homeostasis vascular, actuando generalmente en forma antagónica los eicosanoides derivados de los ácidos grasos n-6 y de los ácidos grasos n-3.

- Recientemente, se ha identificado una activa participación de los ácidos grasos esenciales en la regulación de la expresión de diferentes genes, particularmente actuando como ligandos de los receptores de los proliferadores peroxisomales, identificados colectivamente como PPAR, lo cual involucra a los ácidos grasos esenciales en la causalidad y en los problemas que ocasionan enfermedades crónicas de alta prevalencia, como la obesidad, la diabetes tipo 2 y las dislipidemias, y en otras patologías que son de origen genético.

- La nutrición occidental se caracteriza por un aporte mayoritario de ácidos grasos n-6, siendo el aporte de ácidos grasos n-3 muy bajo o, como ocurre con algunas poblaciones, casi inexistente. De esta forma, han surgido recomendaciones de ingesta, estableciéndose cantidades mínimas de consumo de ácidos grasos n-6 y n-3, así como también proporciones entre ambos para las diferentes edades.

- Se realizan esfuerzos de investigación y tecnológicos para obtener fuentes adecuadas de ácidos grasos esenciales, especialmente de aquéllos de cadena más larga, para suplementar nuestra dieta y/o para incorporarlos a diferentes alimentos. La adición de ácidos grasos n-6 y n-3 a las fórmulas de reemplazo de la leche materna es ya una práctica aplicada en muchos países. De la misma manera, el desarrollo de diferentes alimentos con mayor cantidad de ácidos grasos n-3 también ha experimentado un incremento notable en muchos países. Los ácidos grasos esenciales cumplen importantes funciones en nuestro organismo, por lo que se debe procurar que nuestra alimentación los provea en cantidad y proporción adecuadas.

12. Bibliografía

Benatti P, Peluso G, Nicolai R, Calvani M. Polyunsaturated fatty acids: biochemical, nutritional and epigenetic properties. J Am Col Nutr 2004; 23: 281-302.
Revisión muy actualizada sobre las diferentes funciones bioquímicas y nutricionales de los ácidos grasos esenciales, con especial énfasis en sus efectos en la prevención de algunas enfermedades crónicas.

Bistrian BR. Clinical aspects of essential fatty acid metabolism: Jonathan Rhoads Lecture. J Parent Enter Nutr 2003; 27: 168-75.
Una excelente revisión sobre los efectos de la nutrición con AGE n-6 y n-3 desde un punto de vista clínico.

Diet, Nutrition and Prevention of Chronic Diseases. WHO Technical Report N° 916, 2003.
Documento actualizado sobre las recomendaciones de ingesta de nutrientes en general y su relación con la salud.

Fats and Oils in Human Nutrition. Report of a Joint Expert Consultation. FAO and WHO Nutrition Paper N° 57, 1994.
Extensa revisión sobre la estructura, obtención, procesamiento, metabolismo y efectos en la salud de las grasas y aceites.

Holman RT. The slow discovery of the importance of n-3 essential fatty acids in human health. J Nutr 1998; 128: 427S-33S.
Importante revisión sobre el descubrimiento de la esencialidad de los ácidos grasos n-3, de sus efectos carenciales y del estatus nutricional de la población.

Sessler A, Ntami J. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. J Nutr 1998; 128: 923-6.
Excelente revisión sobre el rol de los AGE en el control de la expresión génica y en la diferenciación de los adipositos a través de los PPAR.

Simopoulos AP, Cleland G (eds.). Omega-6/omega-3 Essential Fatty acid ratio; the Scientific Evidence. World Review of Nutrition and Dietetics 2003; vol 92. Basel, Karger.
Analiza el estado del arte de los AGE n-6 y n-3 en sus múltiples funciones fisiológicas.

Uauy R, Mena P, Valenzuela A. Essential fatty acids as determinants of lipid requirements in infant, children and adults. Eur J Clin Nutr 1999; 53: S66-S77.
Una revisión sobre los requerimientos específicos de AGPI y de AGPICL en diferentes edades y situaciones metabólicas. Presenta un énfasis especial en los efectos nutricionales y metabólicos del EPA y del DHA.

Uauy R, Valenzuela A. Marine oils: the health benefits of n-3 fatty acids. Nutrition 2000; 16; 680-9.
Esta revisión aborda los principales efectos fisiológicos de los ácidos grasos n-3 y los desarrollos tecnológicos que actualmente se implementan para poder proveer fuentes adecuadas de ácidos grasos n-3 a partir de aceites marinos y/o de sus derivados, para la suplementación de la alimentación.

13. Enlaces web

- waltonfeed.com/omega/
- www.vegansociety.com/html/food/nutrition/e fatty acids.php
- www.andrews.edu/NUFS/essentialfat.htm
- dir.yahoo.com/Health/Nutrition/Nutrients/Essential Fatty Acids/
- www.aocs.org/press/inform/ref11101.asp
- www.seniormag.com/caregiverresources/articles/fattyacids.htm

1.14. Metabolismo de los aminoácidos

Fermín Sánchez de Medina Contreras

Capítulo 1.14.

Metabolismo de los aminoácidos

1. Introducción

2. Panorámica general

3. Reacciones generales del metabolismo de los aminoácidos
- 3.1. Transaminación
- 3.2. Desaminación
- 3.3. Aminación
- 3.4. Amidación y desamidación
- 3.5. Descarboxilación

4. Destino del esqueleto carbonado de los aminoácidos
- 4.1. Utilización energética
- 4.2. Utilización gluconeogénica

5. Destino del amonio
- 5.1. Ciclo de la urea
- 5.2. Metabolismo de la glutamina

6. Biosíntesis de aminoácidos no esenciales

7. Vías metabólicas principales de cada uno de los aminoácidos
- 7.1. Alanina, glutamato, glutamina, aspartato y asparragina
- 7.2. Serina, glicina y treonina
- 7.3. Aminoácidos azufrados
- 7.4. Prolina, arginina e histidina
- 7.5. Aminoácidos aromáticos
- 7.6. Aminoácidos ramificados
- 7.7. Triptófano y lisina

8. Metabolismo de los aminoácidos en los distintos tejidos
- 8.1. Metabolismo de los aminoácidos en el enterocito
- 8.2. Metabolismo de los aminoácidos en el hígado
- 8.3. Metabolismo de los aminoácidos en el músculo
- 8.4. Metabolismo de los aminoácidos en el sistema nervioso

9. Interrelaciones tisulares. Aminoácidos plasmáticos

10. Resumen

11. Bibliografía

12. Enlaces web

Objetivos

- Tener una visión global del destino metabólico de los aminoácidos de la dieta.
- Conocer los principales tipos de reacciones que intervienen de una manera general en el metabolismo de los aminoácidos.
- Conocer los diferentes destinos del esqueleto carbonado de los aminoácidos.
- Obtener una visión general del destino del nitrógeno aminoacídico, distinguiendo entre la formación de urea por el hígado y la formación de iones amonio por el riñón.
- Conocer las vías de formación de los aminoácidos no esenciales.
- Tener información básica sobre las vías principales del metabolismo de cada uno de los aminoácidos.
- Comprender el papel de muchos aminoácidos como precursores de otros compuestos nitrogenados.
- Tener una visión general del metabolismo de los aminoácidos en los distintos tejidos y de las relaciones intertisulares.

1. Introducción

Los aminoácidos constituyen un grupo de nutrientes muy especiales. Su principal función, lógicamente, es su incorporación a las proteínas corporales, proceso que es especialmente importante durante el crecimiento. Los aminoácidos forman parte también de péptidos de gran interés fisiológico, y son precursores de todas las sustancias nitrogenadas del organismo (con la excepción de las vitaminas): porfirinas, purinas, pirimidinas, creatina, carnitina, aminoazúcares, etc. Pero, además, cuando la dieta es hiperproteica, los aminoácidos pueden utilizarse con fines energéticos. Y si la dieta carece de hidratos de carbono, podrán convertirse en glucosa para su consumo por el sistema nervioso central. Por otra parte, la gluconeogénesis a partir de los aminoácidos musculares es especialmente relevante durante el ayuno.

Dada la multiplicidad de funciones de los aminoácidos, resulta absolutamente fundamental el conocimiento de su metabolismo. Este conocimiento implica tanto a las vías de formación de los aminoácidos no esenciales como a las rutas de su catabolismo y a la síntesis de la multitud de compuestos nitrogenados derivados. Es importante señalar que todavía no se conoce, en algunos casos, la importancia relativa de las distintas vías metabólicas que corresponden a un aminoácido determinado, sobre todo porque los datos de que se dispone se obtienen generalmente de animales de experimentación.

En este Capítulo se van a considerar especialmente los aspectos generales del metabolismo de los aminoácidos, aunque se esbozarán esquemáticamente las vías que afectan a cada aminoácido en particular. En todos los casos, las rutas metabólicas de los aminoácidos se entroncan con determinados metabolitos intermediarios de la glucólisis y del ciclo de Krebs. Muchas de estas vías metabólicas requieren el concurso de coenzimas derivados de vitaminas tales como la piridoxina, la tiamina, el ácido pantoténico, los folatos, etc., que se consideran con detalle en los Capítulos 1.21 y 1.22. Algunas de las vías metabólicas de los aminoácidos pueden estar alteradas genéticamente, originando las correspondientes enzimopatías. Este tema se aborda específicamente en el Capítulo 4.14.

Existen importantes diferencias entre las vías metabólicas de los aminoácidos en los distintos órganos y tejidos. Por ello, se va a prestar una atención especial a las características específicas de cada tejido y a la naturaleza de las interrelaciones tisulares.

2. Panorámica general

Las proteínas de la dieta se hidrolizan en el tracto gastrointestinal, produciendo aminoácidos y péptidos de pequeño peso molecular que se absorben por las células de la mucosa. Algunos aminoácidos se utilizan en estas células en funciones energéticas y para el recambio tisular, que es muy importante en este tejido, mientras que otros sufren ciertas transformaciones metabólicas (sobre todo, la transaminación de los aminoácidos dicarboxílicos), de manera que los aminoácidos que llegan al hígado por vía portal no son exactamente los mismos que se absorbieron en la mucosa intestinal.

Los aminoácidos utilizan una gran cantidad de sistemas de transporte para entrar en los diferentes tejidos. Generalmente, cada sistema transporta un cierto número de aminoácidos relacionados, que pueden agruparse de forma muy simplificada de la siguiente forma:

a) Aminoácidos neutros alifáticos y aromáticos.
b) Aminoácidos dibásicos.
c) Aminoácidos dicarboxílicos.
d) Prolina y glicina.

Como es lógico, los aminoácidos de cada grupo se inhiben entre sí de forma competitiva al compartir el mismo tipo de transportador.

El destino metabólico de los aminoácidos es extraordinariamente complejo: utilización energética o gluconeogénica, síntesis de aminoácidos no esenciales, formación de otros compuestos nitrogenados, síntesis de péptidos y proteínas, etc. Es importante resaltar que todas las sustancias nitrogenadas del organismo derivan de los aminoácidos, lo que hace especialmente importante la ingesta proteica.

La utilización de los aminoácidos es muy extensa en todos los tejidos, y resultan muy interesantes las relaciones intertisulares entre la mucosa intestinal, el hígado, el músculo y la corteza renal. El hígado metaboliza gran parte de los aminoácidos que le llegan por vía portal, pero libera a su vez aminoácidos a la circulación general. Estos aminoácidos liberados por el hígado son captados por los tejidos periféricos, pero, a su vez, algunos de estos tejidos envían aminoácidos a la circulación, de acuerdo con las circunstancias fisiológicas o patológicas (ayuno, estrés, diabetes, etc.). La insulina estimula la captación de aminoácidos y la síntesis de proteínas en el tejido muscular, mientras que los glucocorticoides favorecen la proteólisis y la salida de los aminoácidos al plasma. En cualquier caso, el aminograma plasmático es bastante constante, a no ser que existan alteraciones patológicas muy graves, como la desnutrición, la insuficiencia hepática o alguna aminoacidopatía.

3. Reacciones generales del metabolismo de los aminoácidos

La transaminación es la reacción más frecuente de los aminoácidos. Afecta prácticamente a todos los mismos en alguna etapa de su degradación y es utilizada también en la síntesis de los aminoácidos no esenciales. La transaminación se conecta con la desaminación del glutamato a α-cetoglutarato en la utilización catabólica de los aminoácidos. De manera inversa, la transaminación puede acoplarse a la aminación del α-cetoglutarato a glutamato en la biosíntesis de los aminoácidos no esenciales. La descarboxilación tiene otro significado, ya que los productos que se originan suelen tener una gran actividad biológica (aminas biógenas).

En el catabolismo de algunos aminoácidos, especialmente de los aminoácidos ramificados, se produce la descarboxilación oxidativa de los cetoácidos originados previamente por transaminación. La reacción es análoga a la que interviene en el metabolismo de otros cetoácidos como el piruvato y el α-cetoglutarato, y se necesita el concurso de varios coenzimas (pirofosfato de tiamina, coenzima A, FAD y NAD), como se describe en el Capítulo 1.21. Otras reacciones que se producen en el metabolismo de los aminoácidos (carboxilación, oxidaciones, reducciones, etc.) son también comunes al resto del metabolismo intermediario y se describen, asimismo, en los Capítulos 1.21 y 1.22.

3.1. Transaminación

La reacción de transaminación consiste en la transferencia de un grupo amino desde un aminoácido a un α-cetoácido. Como resultado de ello, el aminoácido original queda convertido en

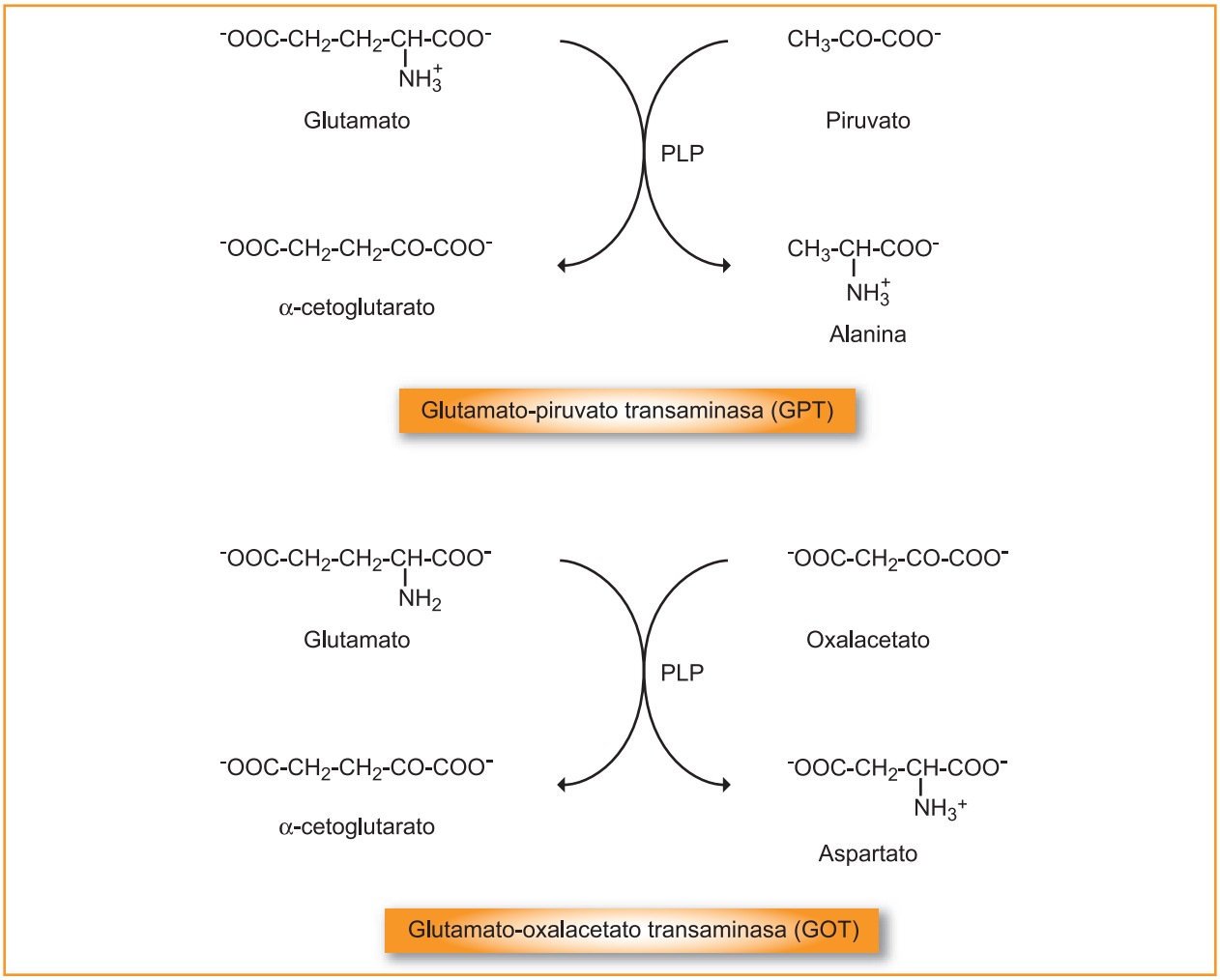


Figura 1. *Reacciones de transaminación. PLP: piridoxal-fosfato.*

cetoácido, y el cetoácido original, en aminoácido. En casi todos los casos interviene el sistema glutamato/α-cetoglutarato. Las enzimas se denominan aminotransferasas o transaminasas y requieren el concurso del piridoxal-fosfato (PLP), coenzima derivado de la piridoxina (*ver Capítulo 1.21, apartado 6.3*).

La conversión de aminoácidos en cetoácidos permite en muchos casos su utilización energética, ya que la mayoría de estos cetoácidos se integran en las vías catabólicas de la glucosa (glucólisis y ciclo de Krebs). En el caso de los aminoácidos glucogénicos (*ver más adelante*), su transformación en cetoácidos permite igualmente la síntesis de glucosa. A la inversa, las reacciones de transaminación permiten la síntesis de los aminoácidos no esenciales a partir de los cetoácidos correspondientes.

Casi todos los aminoácidos sufren reacciones de transaminación en su metabolismo. En algunos casos (alanina, aspartato, glutamato, tirosina, serina y aminoácidos ramificados), estas reacciones se realizan directamente sobre el propio aminoácido. En otros casos, las reacciones de transaminación se realizan sobre metabolitos de los aminoácidos (lisina, prolina, triptófano o arginina). Existen también algunos aminoácidos que pueden sufrir transaminaciones pero disponen además de vías alternativas para perder el grupo nitrogenado. En la **Figura 1** se incluyen dos reacciones de transaminación muy frecuentes y de gran interés fisiológico.

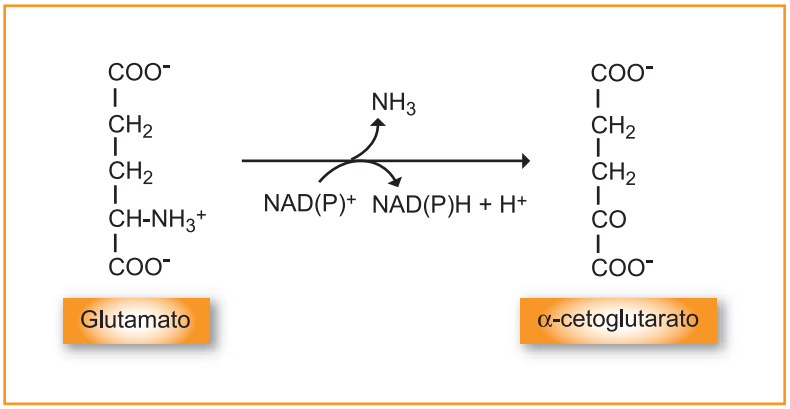


Figura 2. *Desaminación oxidativa del glutamato. NAD(P): nicotín-adenín-dinucleótido (fosfato); NAD(P)H: nicotín-adenín-dinucleótido (fosfato) reducido.*

3.2. Desaminación

El sistema de desaminación más frecuente en el organismo humano es la desaminación oxidativa del glutamato, aunque existen otros sistemas de desaminación con menos trascendencia fisiológica.

a) Desaminación oxidativa del glutamato. Esta reacción consiste en el paso de glutamato a α-cetoglutarato con pérdida del grupo nitrogenado como amoniaco y oxidación mediada por NAD o NADP (*ver Capítulo 1.21, apartado 4.4*), y está catalizada por una enzima, la glutamato deshidrogenasa, que abunda especialmente en las mitocondrias hepáticas **(Figura 2).** Esta enzima actúa sobre el glutamato originado en las transaminaciones de distintos aminoácidos. De esta forma, se regenera el α-cetoglutarato y puede utilizarse el cetoácido inicial con fines energéticos. En la **Figura 3** se esquematiza la conexión de ambos tipos de reacción en la metabolización del aspartato.

La reacción catalizada por la glutamato deshidrogenasa es reversible, de manera que puede servir también como un sistema de aminación (*ver apartado siguiente*). Sin embargo, parece funcionar sobre todo de manera oxidativa. De hecho, la actividad de esta enzima está regulada negativamente por la concentración de ATP y GTP, que estarían aumentados en condiciones de plétora energética, lo que implicaría el cese de la utilización de aminoácidos con este fin.

b) Aminoácido-oxidasas. Las aminoácido-oxidasas son flavoproteínas que funcionan en los peroxisomas, especialmente a nivel renal, y generan peróxido de hidrógeno. Éste es posteriormente metabolizado por la catalasa **(Figura 4)**. Estas enzimas pueden actuar sobre los D-aminoácidos, que no son los habituales (L-aminoácidos), pero que se pueden encontrar en algunos alimentos.

c) Desaminaciones deshidratantes y desulfhidrantes. Los aminoácidos con grupos alcohólicos o tiólicos pueden sufrir una desaminación deshidratante o desulfhidrante, con el concurso del piridoxal fosfato. En la **Figura 5** se esquematiza la desaminación deshidratante de la serina, que es la única relativamente importante desde el punto de vista fisiológico.

d) Otros tipos de desaminación. Algunos aminoácidos pueden sufrir la pérdida de su grupo amino por otras clases de reacciones químicas. Éste es el caso, por ejemplo, de la glicina. La desaminación de este aminoácido está catalizada por un complejo enzimático que tiene ciertas similitudes de actuación

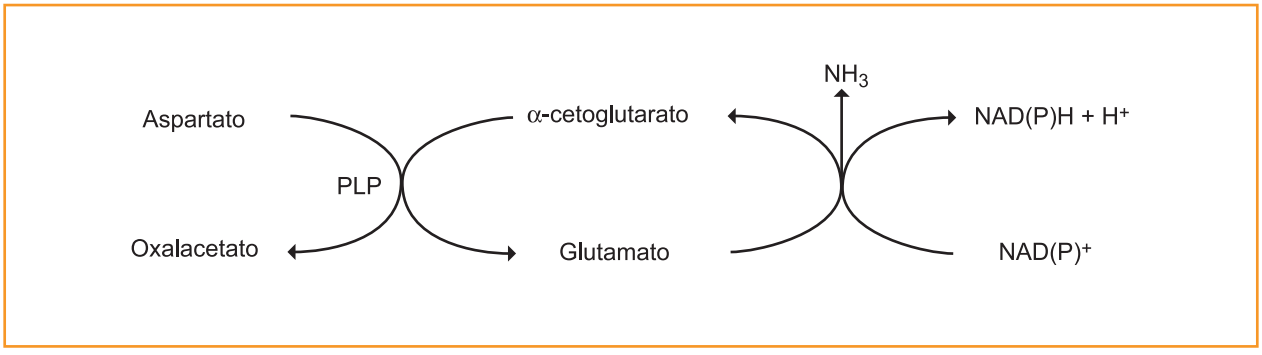


Figura 3. *Utilización catabólica del aspartato por transaminación y desaminación. PLP: piridoxal-fosfato; NAD(P): nicotín-adenín-dinucleótido (fosfato); NAD(P)H: nicotín-adenín-dinucleótido (fosfato) reducido.*

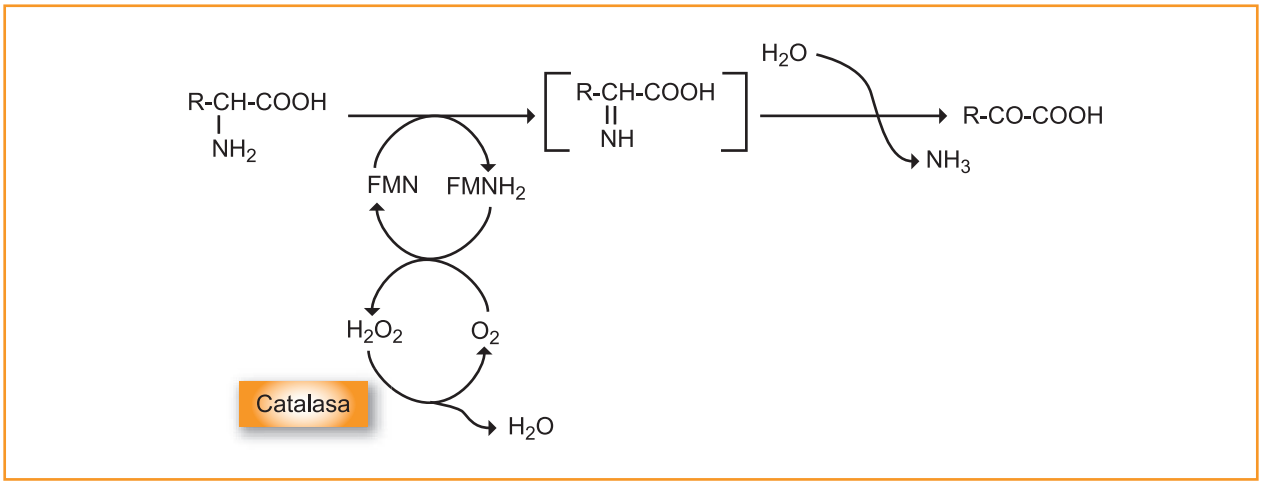


Figura 4. *Desaminación oxidativa de aminoácidos por amino-oxidasas. FMN: flavín-monoculeótido; $FMNH_2$: flavín-mononucleótido reducido.*

con la piruvato deshidrogenasa y enzimas relacionadas que catalizan descarboxilaciones oxidativas.

3.3. Aminación

La reacción principal de aminación que se produce en el organismo humano es la formación de glutamato a partir del α-cetoglutarato, con el concurso del NADH o del NADPH y la enzima glutamato deshidrogenasa, como se acaba de describir. Mientras que el coenzima utilizado en el sentido oxidativo sería el NAD, el funcionamiento de la enzima en sentido reductor llevaría a la utilización del NADPH, en consonancia con las funciones características de ambos coenzimas (*ver Capítulo 1.21, apartado 4.4*). La transaminación posterior del glutamato con un cetoácido (p. ej., piruvato) origina la formación del aminoácido correspondiente (alanina) **(Figura 6)**.

3.4. Amidación y desamidación

Los aminoácidos glutamina y asparragina poseen un grupo nitrogenado adicional de tipo amida. Este grupo nitrogenado procede también del amoniaco y se incorpora a los aminoácidos glutamato y aspartato en reacciones que requieren el aporte energético del ATP y que están catalizadas respectivamente por la glutamina sintetasa y la asparragina sintetasa. Es interesante señalar que en este último caso el donador del grupo amido podría ser la propia glutamina. La desamidación de la glutamina y la asparragina es un proceso más simple, que libera amoniaco en ambos casos y que está catalizado respectivamente por la glutaminasa y la asparraginasa. Como se describirá más adelante, las interconversiones entre glutamato y glutamina desempeñan un papel fundamental en la destoxificación del amoniaco. En la **Figura 7** se describe esta interconversión.

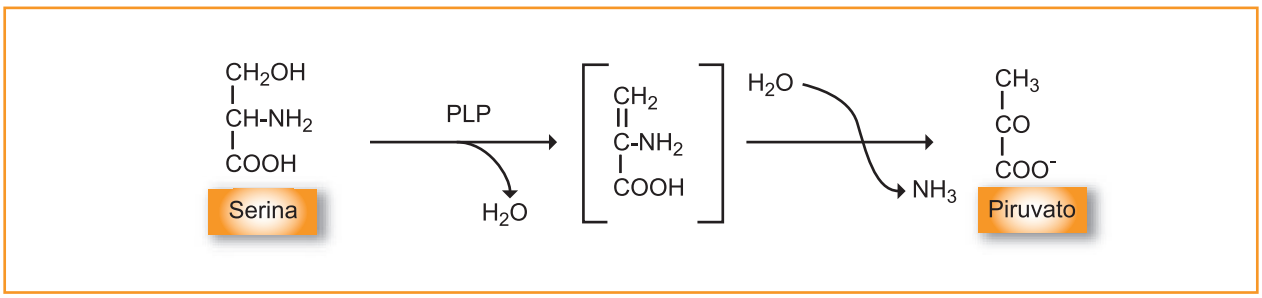


Figura 5. *Desaminación deshidratante de la serina. PLP: piridoxal-fosfato.*

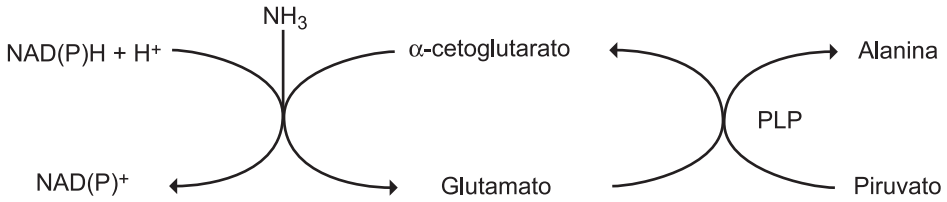


Figura 6. *Formación de alanina por aminación y transaminación. PLP: piridoxal-fosfato; NAD(P): nicotín-adenín-dinucleótido (fosfato); NAD(P)H: nicotín-adenín-dinucleótido (fosfato) reducido.*

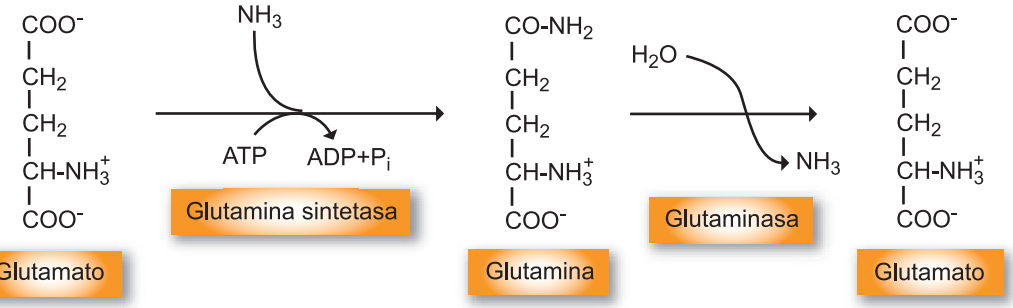


Figura 7. *Formación de glutamina a partir de glutamato (amidación) y regeneración del glutamato a partir de glutamina (desamidación). ATP: adenosín-trifosfato; ADP: adenosín-difosfato.*

3.5. Descarboxilación

La descarboxilación de aminoácidos origina aminas, muchas de las cuales tienen gran actividad biológica (aminas biógenas). Las descarboxilasas de aminoácidos utilizan también como coenzima el piridoxal fosfato. En la **Figura 8** se describe la descarboxilación de la histidina.

4. Destino del esqueleto carbonado de los aminoácidos

El destino que se podría llamar natural de los aminoácidos es su incorporación a péptidos y proteínas o su utilización como precursores de otros compuestos nitrogenados (purinas, pirimidinas, porfirinas, etc.). Sin embargo, cuando el aporte de aminoácidos por la dieta es excesivo, también pueden utilizarse como fuente energética. Otra posibilidad es su conversión en glucosa cuando la dieta carece de hidratos de carbono o en circunstancias como el ayuno, el estrés metabólico o la diabetes. En todos estos casos, se produce la desaminación de los aminoácidos (generalmente a través del sistema transaminasas-glutamato deshidrogenasa).

El esqueleto carbonado restante se utiliza en la obtención de energía o en la formación de glucosa y el amoniaco se transforma en urea. La sede principal de todos estos procesos es el hígado, aunque la gluconeogénesis se produce también en la corteza renal.

Por otra parte, los aminoácidos ramificados (valina, leucina e isoleucina) no se degradan en el hígado sino que lo hacen sobre todo en el tejido muscular.

No todos los aminoácidos se pueden convertir en glucosa. Para ello, su metabolización debe llevar a la producción de cetoácidos capaces de incorporarse a la vía gluconeogénica, tales como piruvato, α-cetoglutarato y oxalacetato. Estos

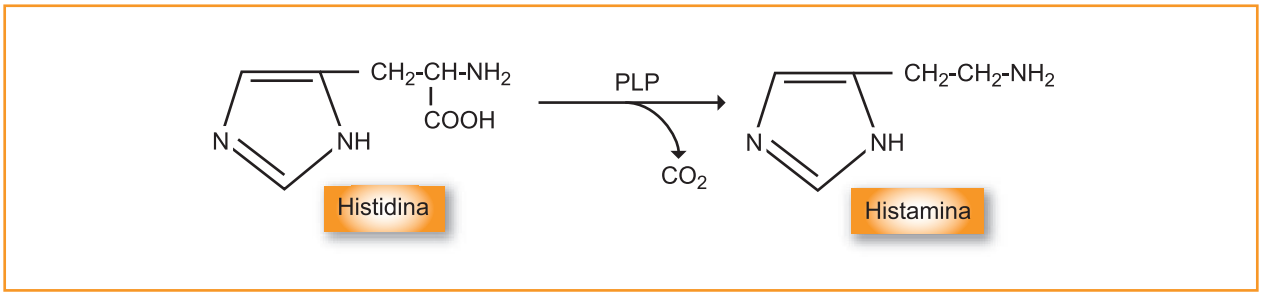


Figura 8. *Descarboxilación de la histidina. PLP: piridoxal-fosfato.*

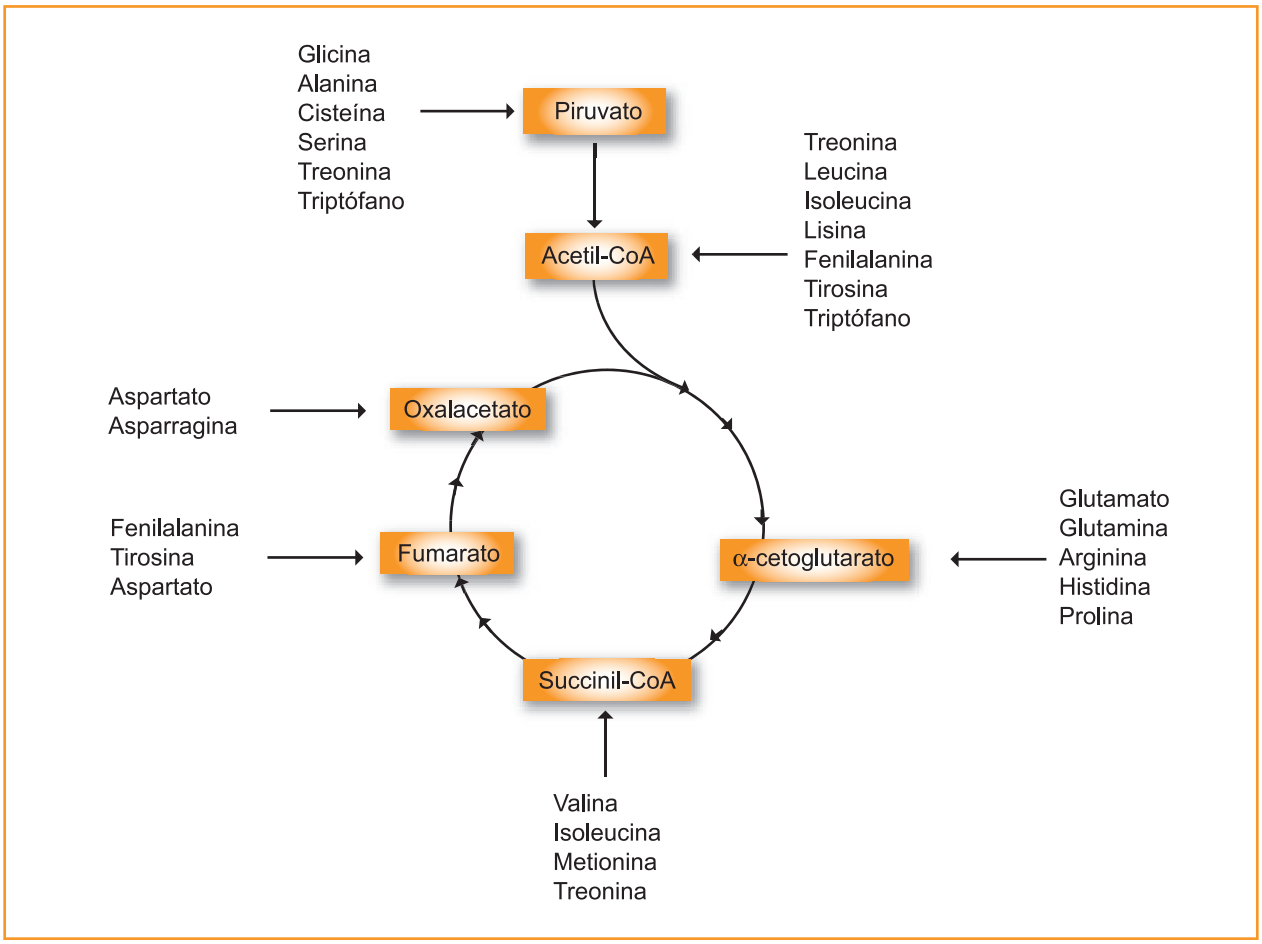


Figura 9. *Destino de las cadenas carbonadas de los aminoácidos.*

aminoácidos reciben el nombre de aminoácidos glucogénicos. Otros aminoácidos tienen la posibilidad de originar compuestos cetónicos. Son los que llevan a la producción de acetil-CoA, como la leucina (aminoácidos cetogénicos). Algunos aminoácidos, como la fenilalanina, por ejemplo, originan ambos tipos de intermediarios en su metabolismo, por lo que pueden considerarse glucogénicos y cetogénicos. Por último, vale la pena señalar que la mayoría de los aminoácidos pueden originar ácidos grasos cuando la dieta es hiperproteica e hipocalórica. El destino metabólico de las cadenas carbonadas de los aminoácidos se ilustra en la **Figura 9**.

4.1. Utilización energética

La utilización energética de los aminoácidos es especialmente importante en hígado, músculo, enterocitos y células del sistema inmune.

a) Hígado. Los aminoácidos sólo se utilizan como fuente de energía si llegan al hígado en cantidad excesiva como consecuencia de una dieta muy rica en proteínas. Cuando la ingesta proteica es normal, los aminoácidos resultantes se incorporan preferentemente a las vías biosintéticas (formación de proteínas, purinas, etc.). Esto se debe a las características cinéticas de las enzimas que inician las rutas correspondientes. Mientras que las enzimas que catalizan la incorporación de los aminoácidos a las proteínas (aminoacil-tRNA sintetasas) tienen una K_m muy baja, las enzimas que inician la degradación de los aminoácidos la tienen muy alta. Se podría decir, por tanto, que las vías catabólicas sólo utilizan los aminoácidos "cuando sobran".

b) Músculo. Como se ha considerado anteriormente, las células musculares utilizan ampliamente los aminoácidos ramificados (valina, leucina e isoleucina) como fuente de energía, especialmente en condiciones de ayuno.

c) Enterocitos. Estas células utilizan los aminoácidos como fuente energética importante, no sólo los que proceden de la absorción intestinal, sino también los aportados por vía arterial, sobre todo la glutamina.

d) Células del sistema inmune. Estas células también utilizan la glutamina como fuente energética principal.

La degradación de los aminoácidos transcurre, como puede observarse en la **Figura 9**, a través de la glucólisis y del ciclo de Krebs. En consecuencia, la energía que se produce es muy similar, aunque un poco menor, como se explicará más adelante, a la que se origina en la degradación de los hidratos de carbono.

4.2. Utilización gluconeogénica

Los aminoácidos se utilizan como sustratos gluconeogénicos cuando se consumen dietas sin hidratos de carbono, en el ayuno, en el estrés metabólico, en la diabetes y, en general, en todas aquellas situaciones en las que las hormonas catabólicas predominen sobre la insulina. Durante el ayuno y en las situaciones de estrés metabólico, los aminoácidos proceden de las proteínas musculares, mientras que en las dietas sin hidratos de carbono proceden de las proteínas alimentarias. En la diabetes pueden tener ambos orígenes dependiendo del curso de la enfermedad.

5. Destino del amonio

La desaminación de los aminoácidos (y también la de otros compuestos nitrogenados, como los nucleótidos de adenina) produce amoniaco, que es una sustancia tóxica para el organismo, sobre todo a nivel cerebral. Al hígado llega también amoniaco por la circulación portal como resultado de la actividad microbiana intestinal. Las células hepáticas pueden utilizar este amoniaco para la formación de aminoácidos no esenciales, a través de la glutamato deshidrogenasa. A su vez, el glutamato puede aceptar el amoniaco para formar glutamina, como se verá más adelante. Sin embargo, el destino principal del amoniaco es su transformación en urea, que no es tóxica y que se elimina finalmente por la orina.

5.1. Ciclo de la urea

La síntesis de la urea se realiza siguiendo un ciclo metabólico de reacciones alimentado por el carbamil-fosfato (que se forma a partir de carbónico y amoniaco) y el aspartato, que aporta el segundo grupo amino **(Figura 10)**. Algunas reacciones son mitocondriales y otras son citoplasmáticas. El conjunto de ellas se desarrolla exclusivamente en el hígado, aunque algunas de las etapas de este ciclo metabólico se pueden dar en otros tejidos. Concretamente, en las células de la mucosa intestinal se desarrollan la mayor parte de estas etapas, aunque el producto final no es la urea, sino los aminoácidos ornitina, prolina, citrulina y arginina.

a) Etapas enzimáticas. El carbamil-fosfato se origina a partir de dióxido de carbono y amoniaco con el concurso de la enzima carbamil-fosfato sintetasa. Se gastan dos moléculas de ATP, lo que garantiza energéticamente el funcionamiento de la reacción y, por tanto, la desaparición del amoniaco. Como el carbamil-fosfato es un compuesto rico

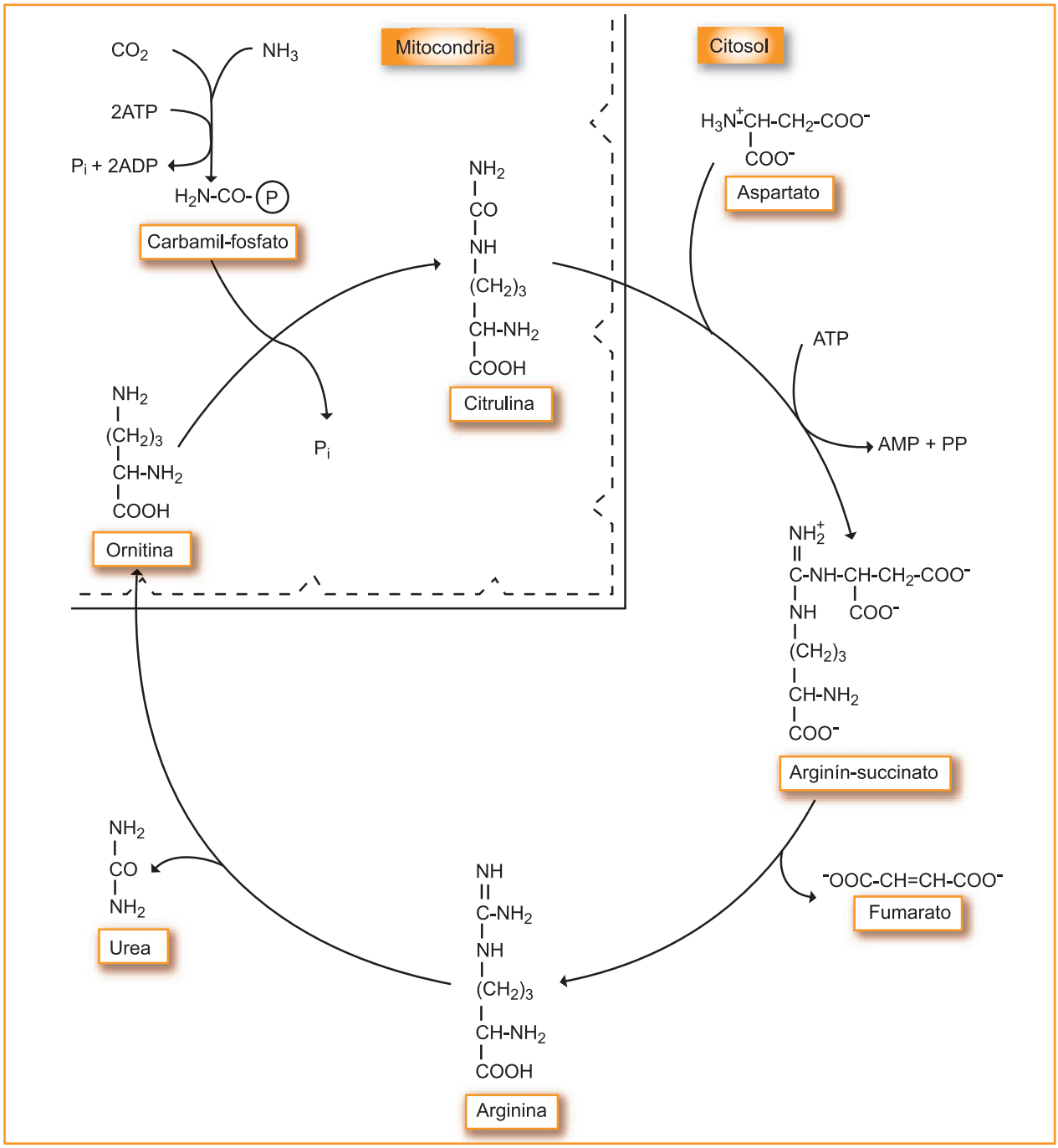


Figura 10. *Ciclo de la urea. ATP: adenosín-trifosfato; ADP: adenosín-difosfato; AMP:adenosín-monofosfato.*

en energía de hidrólisis, la reacción de éste con la ornitina, catalizada por la ornitina transcarbamilasa, también está favorecida. Se forma citrulina, que es un aminoácido no proteinogénico. Ambas reacciones son mitocondriales.

Las reacciones siguientes se producen en el citosol. La citrulina se une al aspartato con producción de arginín-succinato y gasto de ATP. La enzima se llama arginín-succinato sintetasa. En la etapa siguiente, catalizada por la arginín-succinato liasa,

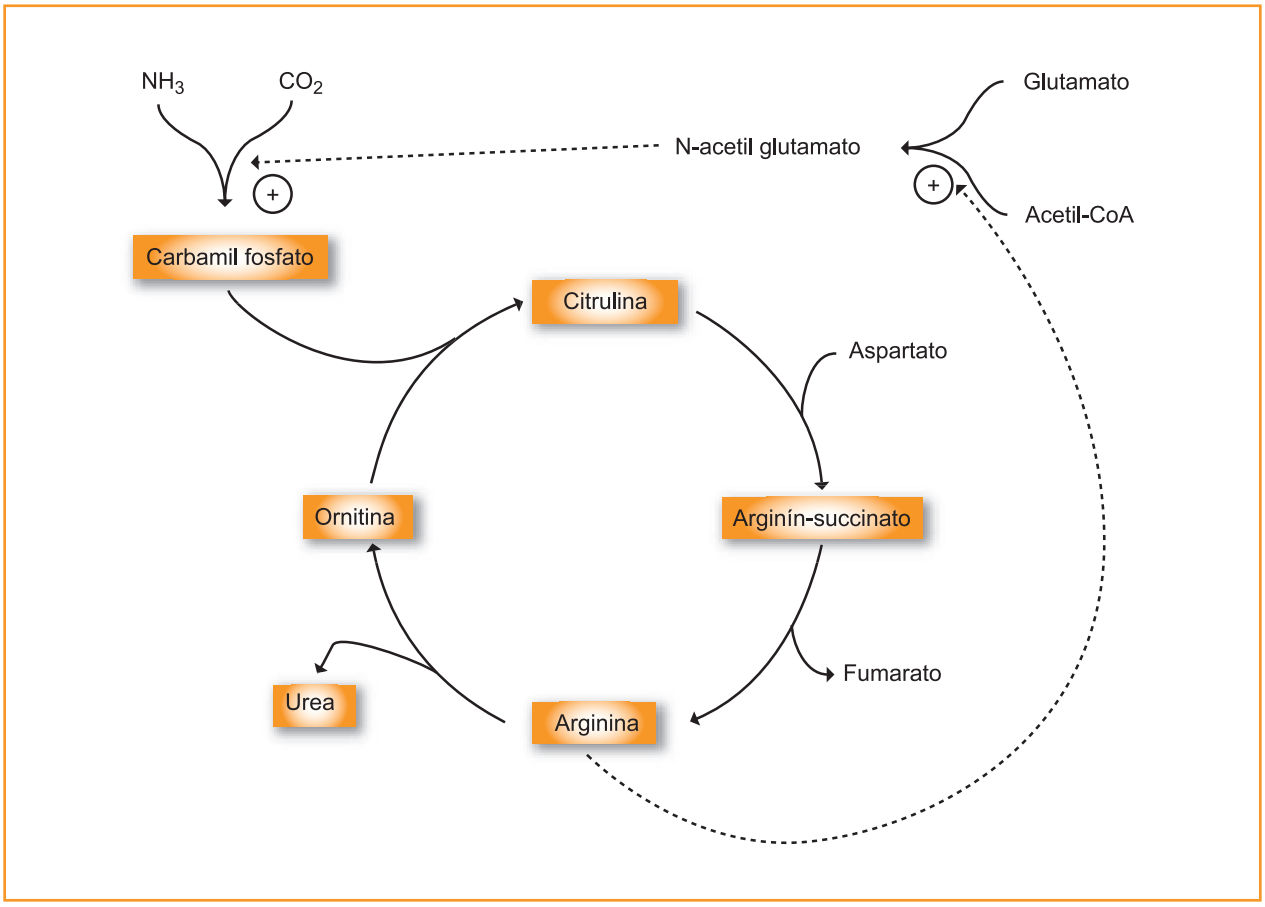


Figura 11. *Regulación a corto plazo del ciclo de la urea.*

se forma arginina y se libera succinato. Por último, la arginasa hidroliza la arginina produciendo urea y regenerando la ornitina.

El funcionamiento del ciclo de la urea exige el gasto de tres moléculas de ATP por cada molécula de urea sintetizada. Este dato es interesante porque explica que el rendimiento energético del catabolismo de los aminoácidos sea un poco menor que el de los hidratos de carbono.

b) Regulación. A corto plazo, la regulación del ciclo de la urea se realiza a nivel de la carbamil-fosfato sintetasa, enzima de carácter alostérico que es activada fuertemente por N-acetil-glutamato. Este compuesto se forma a partir de acetil-CoA y glutamato y la reacción es activada por arginina **(Figura 11)**. Se puede interpretar que los niveles de glutamato reflejan la magnitud de los procesos de desaminación. Por otra parte, el efecto positivo de la arginina, un intermediario del ciclo, tiene un sentido de autoestimulación que parece interesante en un proceso de destoxificación. A largo plazo, se produce una inducción generalizada de las enzimas de la ureogénesis cuando las dietas son muy ricas en proteínas o durante el ayuno.

5.2. Metabolismo de la glutamina

La glutamina es el aminoácido más abundante en el plasma sanguíneo, lo que traduce sus importantes funciones fisiológicas. Estas funciones se basan en sus relaciones metabólicas con el glutamato descritas en el apartado 3.4. La glutamina se forma a partir de glutamato y de amoniaco en reacción catalizada por la glutamina sintetasa con la colaboración del ATP. La hidrólisis de la glutamina (catalizada por la glutaminasa) regenera el glutamato y el amoniaco **(Figura 7)**. Como se ha descrito en el apartado anterior, la formación de la urea se realiza exclusivamente

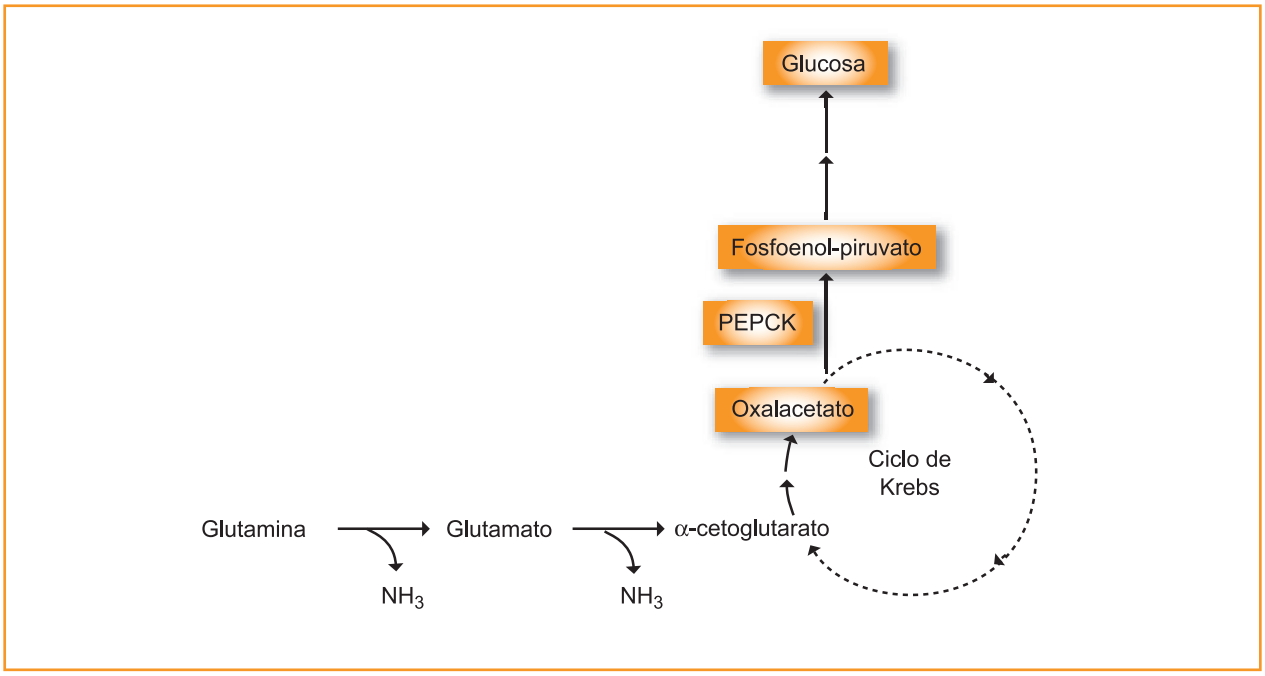


Figura 12. *Amoniogénesis y gluconeogénesis renal a partir de glutamina. PEPCK: fosfoenolpiruvato-carboxikinasa.*

en el hígado. La ureogénesis es, sin embargo, un proceso de eficacia limitada, por lo que a veces se necesita otro mecanismo adicional para captar todo el amoniaco que puede llegar al hígado. Este mecanismo consiste en la formación de glutamina a partir de glutamato. Esta reacción sirve también para captar el amoniaco formado en los tejidos periféricos, donde no se realiza la ureogénesis. De acuerdo con esta última funcion, se puede considerar, por tanto, la glutamina como una forma circulante de almacenamiento de amoniaco.

En algunos tejidos y órganos, como el músculo, el tejido adiposo, los pulmones y el cerebro, predomina la síntesis de glutamina y su liberación a la sangre. Para estas células, y especialmente para las células cerebrales, esta reacción tiene un significado muy claro de defensa, dado el carácter tóxico del amoniaco sobre las células nerviosas. En otros tejidos predomina la hidrólisis de la glutamina que llega por la circulación. En las células de la mucosa intestinal, la glutamina se utiliza como fuente energética y para la síntesis de purinas, que es muy activa en este tejido. En la corteza renal, cuando existen condiciones de acidosis metabólica (ayuno, p. ej.), la glutamina cede sucesivamente sus dos grupos nitrogenados en forma de amoniaco, que se elimina por la orina para regular el equilibrio ácido-base del organismo **(Figura 12)**. En estas condiciones, el α-cetoglutarato resultante se transforma en glucosa gracias a la actividad aumentada de la fosfoenolpiruvato carboxikinasa (*ver Capítulo 2.8*).

En el hígado se llevan a cabo los dos procesos. En los hepatocitos periportales (situados cerca de los espacios porta, donde desembocan la vena porta y la arteria hepática) se realiza la extracción de la glutamina sanguínea y su hidrólisis posterior, utilizándose el amoniaco en la síntesis de urea. En los hepatocitos perivenosos (situados en la vecindad de la vena hepática), en cambio, se sintetiza glutamina para captar el amoniaco que se hubiera podido escapar a la ureogénesis **(Figura 13)**.

6. Biosíntesis de aminoácidos no esenciales

En líneas generales, los aminoácidos no esenciales se sintetizan a partir de cetoácidos intermediarios del metabolismo de los hidratos de carbono mediante procesos de aminación y transaminación. Cuando los aminoácidos derivan de cetoácidos que no se producen en el organismo humano, su síntesis endógena es imposible; tienen, por tanto, que ser

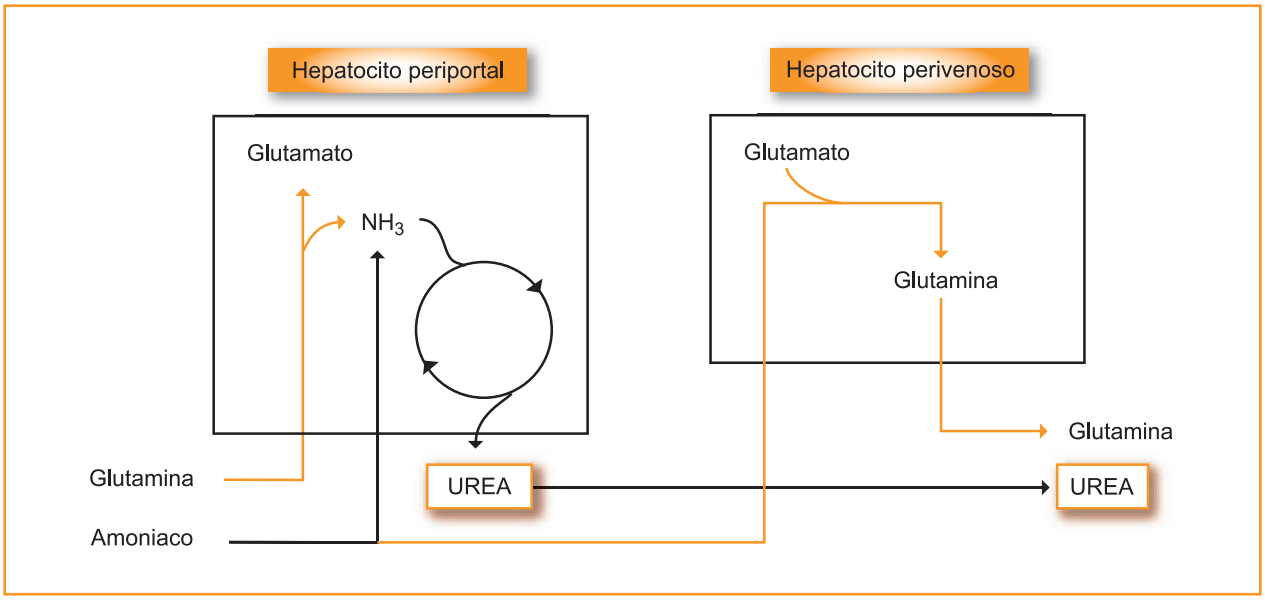


Figura 13. *Metabolismo de la glutamina y ureogénesis en los hepatocitos.*

aportados por la alimentación y reciben el nombre de aminoácidos esenciales. En la **Figura 14** se esquematizan las vías de formación de los aminoácidos proteinogénicos, señalándose las etapas que no se producen en nuestro organismo.

Existen nueve aminoácidos claramente esenciales: valina, leucina, isoleucina, treonina, lisina, metionina, histidina, fenilalanina y triptófano. A esta relación se pueden añadir algunos aminoácidos que deben incluirse en la dieta en determinados casos, que se van a considerar a continuación: arginina, cisteína y tirosina.

a) La **arginina** se puede sintetizar en nuestros tejidos, especialmente en el hígado, pero forma parte del ciclo de la urea. Por consiguiente, casi toda la arginina sintetizada se degrada habitualmente a ornitina. Por otra parte, la mucosa intestinal libera una cierta cantidad de citrulina a la circulacion, que puede ser convertida en arginina por el riñón y utilizada posteriormente por el resto de tejidos. En cualquier caso, existe una cierta limitación para este aporte endógeno de arginina en los casos de requerimientos aumentados (crecimiento, convalecencia, etc.).

b) La **cisteína** y la **tirosina** se forman en el organismo a partir de dos aminoácidos esenciales, metionina y fenilalanina. Únicamente se planteará la necesidad de añadir estos aminoácidos a la dieta cuando no funcionen adecuadamente las enzimas directamente responsables de su formación, lo que puede ocurrir en los recién nacidos, especialmente prematuros. En estos casos es necesario añadir también taurina, amina derivada de la cisteína, que se utiliza en la conjugación de los ácidos biliares y que es también un neurotransmisor central.

A estos aminoácidos (arginina, cisteína y tirosina) se les denomina aminoácidos semiesenciales o condicionalmente esenciales. En esta categoría se puede incluir, asimismo, la glutamina, por sus importantes funciones fisiológicas, que justifican su adición a la dieta en numerosas situaciones (*ver Capítulo 1.15*).

7. Vías metabólicas principales de cada uno de los aminoácidos

La descripción detallada de todas las vías metabólicas de cada uno de los 20 aminoácidos proteinogénicos supera con mucho los objetivos de este Capítulo. Teniendo siempre en cuenta las aplicaciones nutricionales, se van a describir solamente las principales vías metabólicas, sin entrar en detalles químicos que pueden ser consultados en los correspondientes tratados de Bioquímica nutricional que se señalan en la bibliografía.

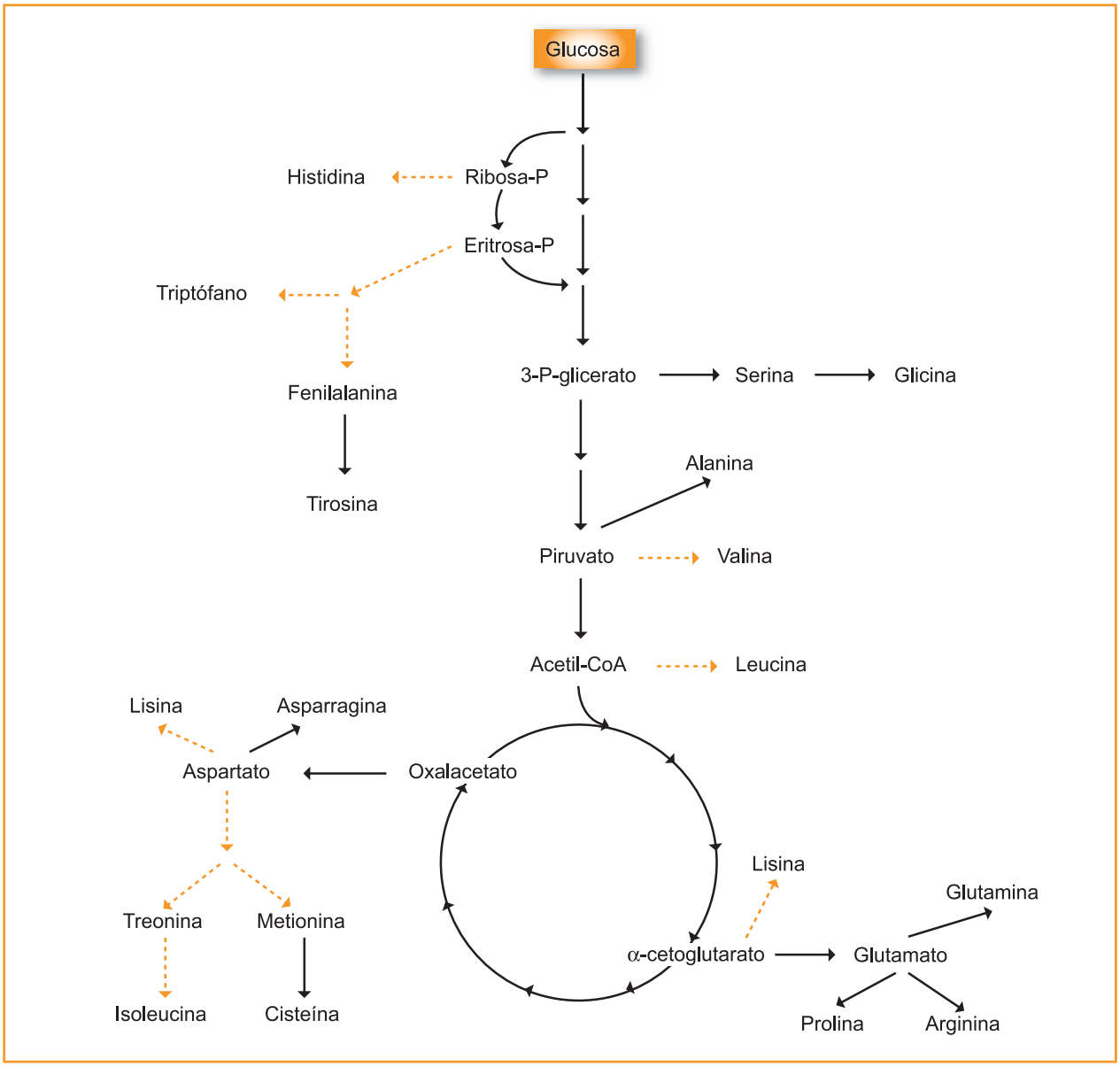


Figura 14. *Vías de formación de aminoácidos (las etapas que no se producen en el organismo humano se representan con línea discontinua).*

7.1. Alanina, glutamato, glutamina, aspartato y asparragina

Todos estos aminoácidos juegan un papel central en el metabolismo del nitrógeno. La alanina, el glutamato y el aspartato son sustratos de las principales aminotransferasas que conectan directamente los aminoácidos con los cetoácidos intermediarios de la glucólisis y el ciclo de Krebs. Por ello, tienen carácter no esencial. Además, estas reacciones se utilizan en el catabolismo energético de los aminoácidos y la gluconeogénesis. El glutamato es el aminoácido que relaciona los procesos de transaminación con la aminación y la desaminación. Por otra parte, el aspartato es uno de los donadores del grupo amino para la síntesis de urea.

La glutamina y la asparragina comparten su condición de aminoácidos no esenciales por la posibilidad de su formación a partir de glutamato y aspartato. En cambio, los papeles metabólicos de

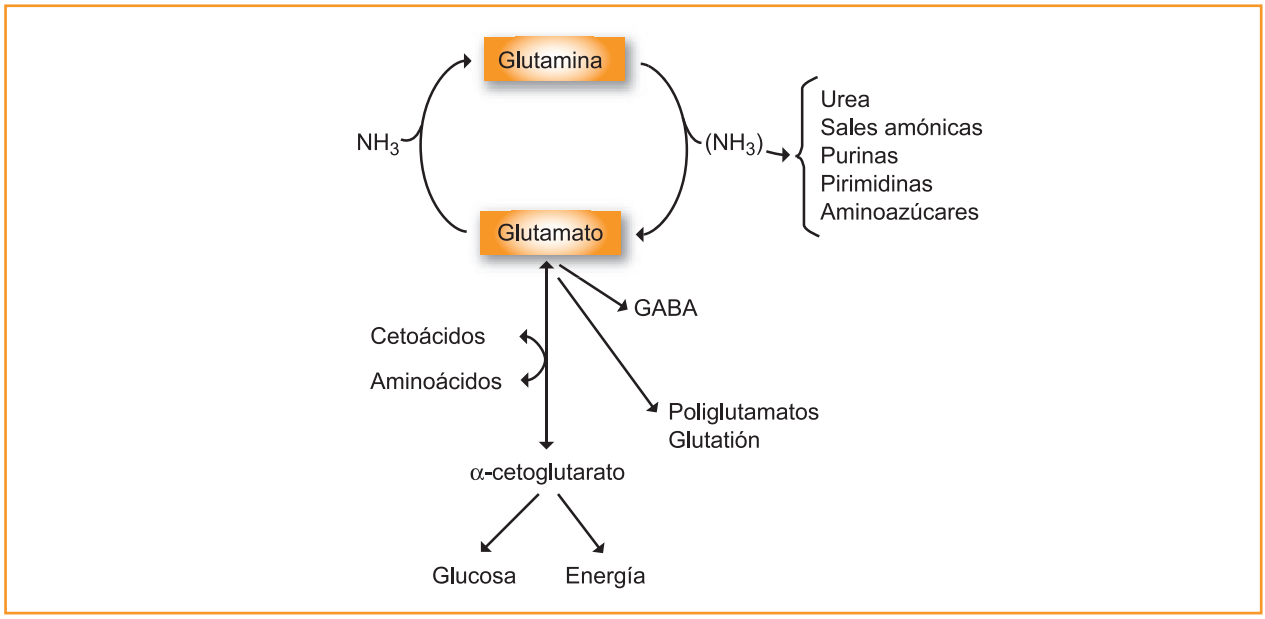


Figura 15. *Interrelaciones y destinos metabólicos de glutamato y glutamina.*

glutamina y asparragina son muy diferentes. Como se ha comentado en el apartado 5.2, la glutamina desempeña una función principal en el metabolismo del amonio. En cambio, la asparragina sólo parece tener un destino metabólico: su incorporación a proteínas.

A continuación se describen sumariamente las principales funciones y vías metabólicas de cada uno de estos aminoácidos:

a) Alanina. Este aminoácido está relacionado reversiblemente con el piruvato por la alanina aminotransferasa. Se puede formar también en el catabolismo del triptófano. Como se detallará más adelante, la alanina es liberada a la sangre por las células de la mucosa intestinal y del músculo esquelético como consecuencia de su síntesis a partir de otros aminoácidos, y es captada posteriormente por el hígado para su transformación en glucosa.

b) Glutamato. Además de su papel central en el metabolismo nitrogenado, el glutamato tiene otras muchas funciones. Por una parte, es un importante neurotransmisor, pero, además, su descarboxilación origina el ácido γ-aminobutírico (*ver Capítulo 1.21, apartado 2.5*), que también tiene actividad neurotransmisora, aunque de carácter contrario. Por otra parte, el glutamato forma parte del tripéptido glutatión y de los derivados del ácido fólico. Conviene recordar, además, que la carboxilación de los restos de glutamato en determinadas proteínas regula su actividad. Estas carboxilaciones son especialmente notables en algunas proteínas de la coagulación y requieren vitamina K (*ver Capítulo 1.21*).

c) Glutamina. La función más característica de la glutamina es la de transportar grupos nitrogenados desde los tejidos periféricos, especialmente al tejido muscular, al hígado, los enterocitos, las células inmunitarias y la corteza renal. Por eso, es el aminoácido más abundante tanto en el plasma sanguíneo como en los tejidos. Ya se ha comentado la función de la glutamina en la desintoxicación del amonio. Además, en los enterocitos y las células inmunitarias, la glutamina puede utilizarse con fines energéticos o como precursor de bases púricas y bases pirimidínicas para la síntesis de ácidos nucleicos. Otro destino metabólico importante de la glutamina es intervenir en la síntesis de aminoazúcares. Estos últimos compuestos (glucosamina, galactosamina, N-acetil-galactosamina, etc.) se forman a partir de la fructosa y se incorporan a glicoproteínas y proteoglicanos (*ver Capítulo 1.9*). La relación entre el glutamato y la glutamina, así como sus principales destinos metabólicos se esquematizan en la **Figura 15**.

d) Aspartato. Este aminoácido está relacionado reversiblemente con el oxalacetato por la

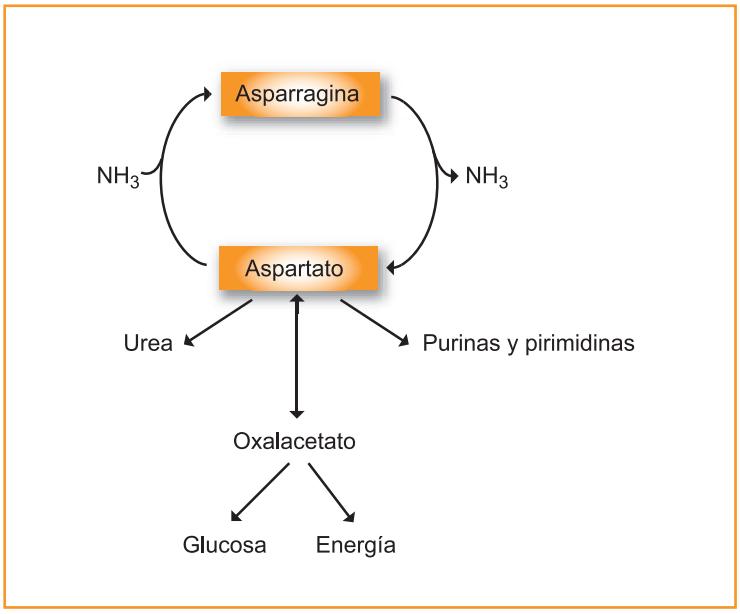


Figura 16. *Interrelaciones y destinos metabólicos de aspartato y asparragina.*

aspartato aminotransferasa. Además, interviene en la biosíntesis de bases púricas y pirimidínicas y en la ureogénesis.

e) Asparragina. La única función metabólica bien conocida de la asparragina es su incorporación a proteínas. En algunas de estas proteínas, el grupo amida de la asparragina se utiliza para la unión a fracciones de oligosacáridos. En la **Figura 16** se esquematizan los destinos metabólicos de aspartato y asparragina.

7.2. Serina, glicina y treonina

Estos tres aminoácidos están interrelacionados metabólicamente, tal como se describe en la **Figura 17**, siendo especialmente interesante la interconversión entre serina y glicina. La enzima que cataliza esta reacción se denomina serina hidroximetil transferasa y utiliza como coenzimas el piridoxal-fosfato y el ácido tetrahidrofólico (FH_4) **(Figura 18)**. Se trata de una reacción reversible. La transformación de serina en glicina se realiza en la mitocondria de la mayor parte de los tejidos, mientras que el paso de glicina a serina se produce sobre todo en el citosol de las células hepáticas y renales. La conversión de serina en glicina está acoplada a la transformación del FH_4 en N_5-N_{10}-metilén-FH_4. Esta última molécula es la forma coenzimática activa para incorporar fragmentos monocarbonados al núcleo de las purinas y para pasar el uracilo a timina (*ver Capítulo 1.22*).

Es interesante destacar que la ruptura posterior de la molécula de glicina está acoplada también a la formación de N_5-N_{10}-metilén-FH_4. Esta reacción es igualmente reversible. De hecho, la enzima que la cataliza recibe el nombre de glicina sintasa. Sin embargo, parece que el sentido degradativo es el más favorecido en condiciones fisiológicas, porque existe una enzimopatía que afecta concretamente a esta enzima y que se traduce en la acumulación sanguínea de glicina (hiperglicinemia no cetótica) (*ver Capítulo 4.14*). Como se señaló en el apartado 3.2, se trata de un complejo enzimático que utiliza como coenzimas el piridoxal-fosfato, el NAD y el ácido lipoico, por lo que guarda cierto parecido con las enzimas que catalizan descarboxilaciones oxidativas (*ver Capítulo 1.21, apartado 2.4*). El catabolismo de la glicina por este sistema enzimático origina dióxido de carbono y amoniaco. Esto explica que la glicina pueda ser captada y metabolizada por la corteza renal, paralelamente a la glutamina, con fines amoniogénicos, aunque de forma cuantitativamente mucho menor.

Otra posibilidad catabólica de la glicina es su transformación en glioxilato. Esta vía parece menos importante que la anterior. Como el glioxilato puede transformarse a su vez en oxalato, podría ser el origen de los correspondientes cálculos renales.

Además de su formación a partir de la serina, la glicina puede originarse en el metabolismo de la treonina. Este aminoácido es esencial, al contrario que la serina y la glicina, y tiene dos posibilidades catabólicas principales. Una de ellas funciona en la fracción citosólica celular y origina propionil-CoA y, por tanto, succinil-CoA (*ver más adelante*). La otra vía es de carácter mitocondrial y es muy semejante a la que rompe la molécula de glicina. Su funcionamiento origina glicina y acetil-CoA. La glicina puede formarse también a partir de la colina por desmetilaciones sucesivas, como se detallará en el Capítulo 1.15.

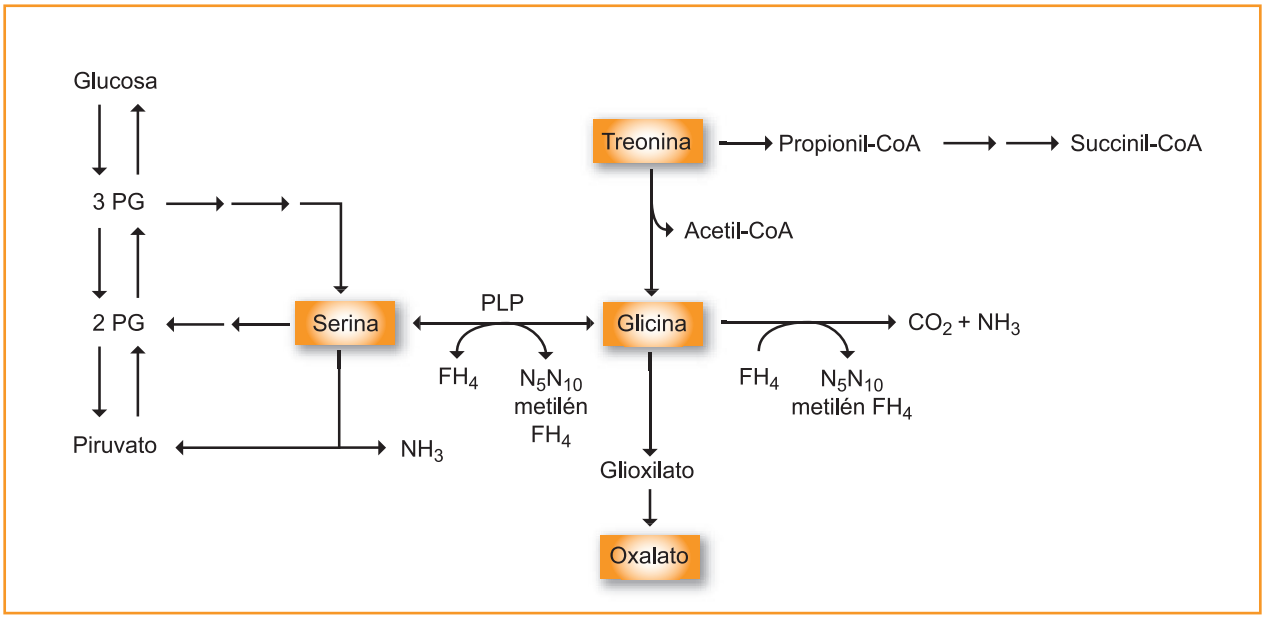


Figura 17. *Interrelaciones metabólicas entre serina, glicina y treonina.*

La metabolización del propionil-CoA no sólo afecta a la degradación de la treonina sino que constituye la vía final de varias rutas catabólicas, por lo que resulta especialmente interesante para muchos aminoácidos. Consiste en la carboxilación del propionil-CoA a metil-malonil-CoA, seguida de su transformación en succinil-CoA. La primera reacción está catalizada por la propionil-CoA carboxilasa y requiere biotina y ATP (*ver Capítulo 1.21, apartado 7.3*). La formación del succinil-CoA está catalizada por la metil-malonil-CoA mutasa y necesita el concurso de la vitamina B_{12} (*ver Capítulo 1.22*). El propionil-CoA puede formarse también en la degradación de los ácidos grasos de número impar de átomos de carbono, aunque en pequeña cantidad. El succinil-CoA es un metabolito del ciclo de Krebs que puede convertirse en glucosa. La conversión del propionil-CoA en succinil-CoA se esquematiza en la **Figura 19**.

La vía fundamental de la síntesis de serina se realiza a partir de un intermediario glucolítico, el 3-fosfoglicerato, a través de reacciones de oxidación, transaminación y pérdida de fosfato. La degradación de la serina puede realizarse por dos rutas metabólicas que confluyen finalmente en el piruvato. La primera de ellas conecta con otro intermediario glucolítico, el 2-fosfoglicerato, a través de reacciones que pueden considerarse globalmente como inversas a las de su síntesis. Existe también la posibilidad directa de formación de piruvato por una desaminación deshidratante, como se consideró en el apartado 3.2

A continuación, se describen de forma sumaria las principales funciones y destinos metabólicos de estos aminoácidos:

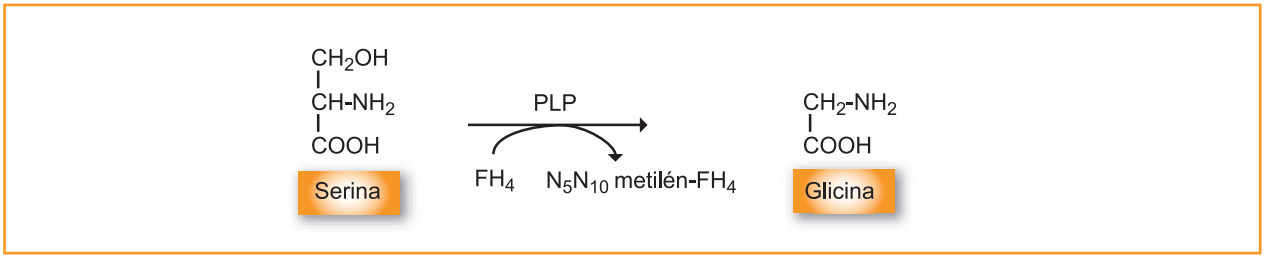


Figura 18. *Formación de metilén-tetrahidrofólico a partir de la serina. FH_4: ácido tetrahidrofólico; PLP: piridoxal-fosfato.*

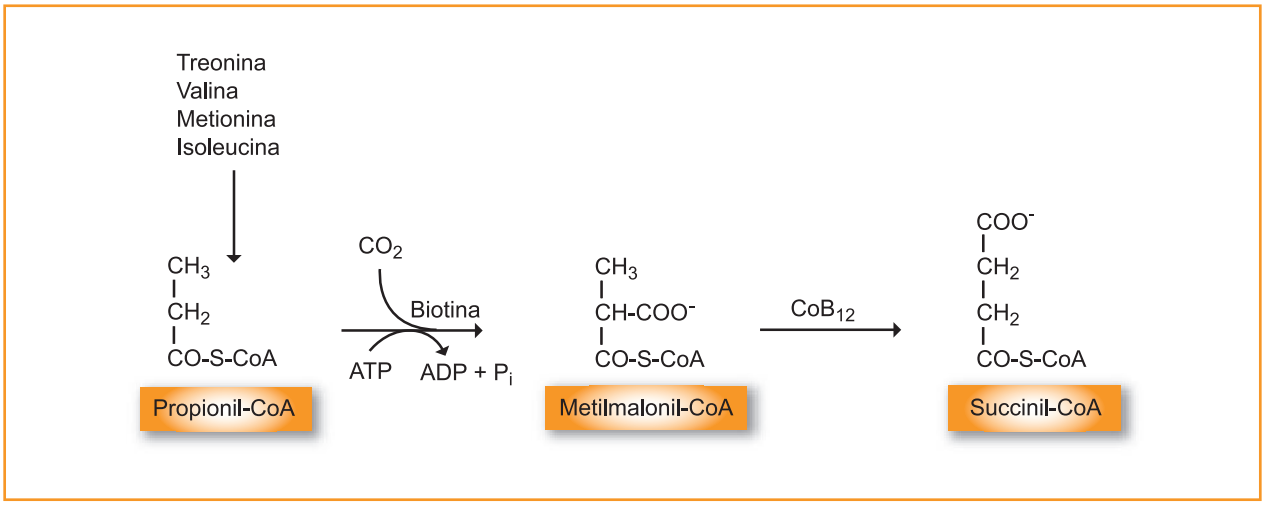


Figura 19. *Formación de succinil-CoA a partir de aminoácidos. ATP: adenosín-trifosfato; ADP: adenosín-difosfato; CoB_{12}: coenzima B_{12}.*

a) Serina. Tanto su formación como su utilización catabólica están conectadas a metabolitos de la vía glucolítica; por tanto, puede considerarse un aminoácido gluconeogénico importante. Como se verá en el apartado siguiente, la serina interviene en la biosíntesis de cisteína. Otra posibilidad metabólica es su incorporación a glicerofosfolípidos y esfingolípidos (*ver Capítulo 1.12*). Su conversión en glicina se traduce, por otra parte, en una fuente de grupos monocarbonados para la síntesis de purinas y timina.

b) Glicina. Es uno de los aminoácidos con más funciones fisiológicas. Por una parte, es un neurotransmisor de carácter inhibidor. Además, se utiliza en la síntesis de numerosos compuestos nitrogenados: glutatión, creatina, porfirinas, purinas y conjugados de los ácidos biliares. Su degradación puede dar lugar a oxalato, puede originar derivados del ácido tetrahidrofólico con actividad metilante o producir amoniaco utilizable en la corteza renal para la regulación del equilibrio ácido-base. Todas estas vías metabólicas se describirán con más detalle en el Capítulo 1.15.

c) Treonina. Es un aminoácido esencial. Su metabolización puede producir glicina y acetil-CoA o, alternativamente, succinil-CoA. Por ello, puede considerarse tanto gluconeogénico como cetogénico.

En la **Figura 20** se esquematizan las principales interrelaciones y destinos metabólicos de serina, glicina y treonina.

7.3. Aminoácidos azufrados

La metionina es un aminoácido esencial que puede originar cisteína en su metabolización. A su vez, la cisteína es el precursor de la taurina, un compuesto nitrogenado de gran importancia nutricional.

La metionina es el principal donador del grupo metilo. Para ello, tiene que convertirse previamente en S-adenosil metionina, en reacción con el ATP. El grupo metilo de la S-adenosil metionina es muy lábil y puede transferirse por tanto a otros compuestos. Una vez realizada la metilación, la S-adenosil metionina queda como S-adenosil homocisteína, compuesto este último que se hidroliza originando homocisteína.

La homocisteína puede regenerar la metionina con el concurso del derivado metilado de la vitamina B_{12}. Este último compuesto se forma a partir del ácido metil-tetrahidrofólico (*ver Capítulo 1.22*). Otra posibilidad de regenerar la metionina es la utilización de los grupos metilo de la betaína, como se estudiará con más detalle en el Capítulo 1.15.

La homocisteína puede también metabolizarse a cisteína a través de la formación de un intermediario denominado cistationina, mediante la incorporación de serina. La síntesis de cistationina se realiza gracias a la actividad de la cistationina sintasa con el concurso del piridoxal-fosfato. A continuación, la molécula de cistationina es convertida en cisteína y ácido α-cetobutírico por la actividad de la cistationasa, enzima que también requiere

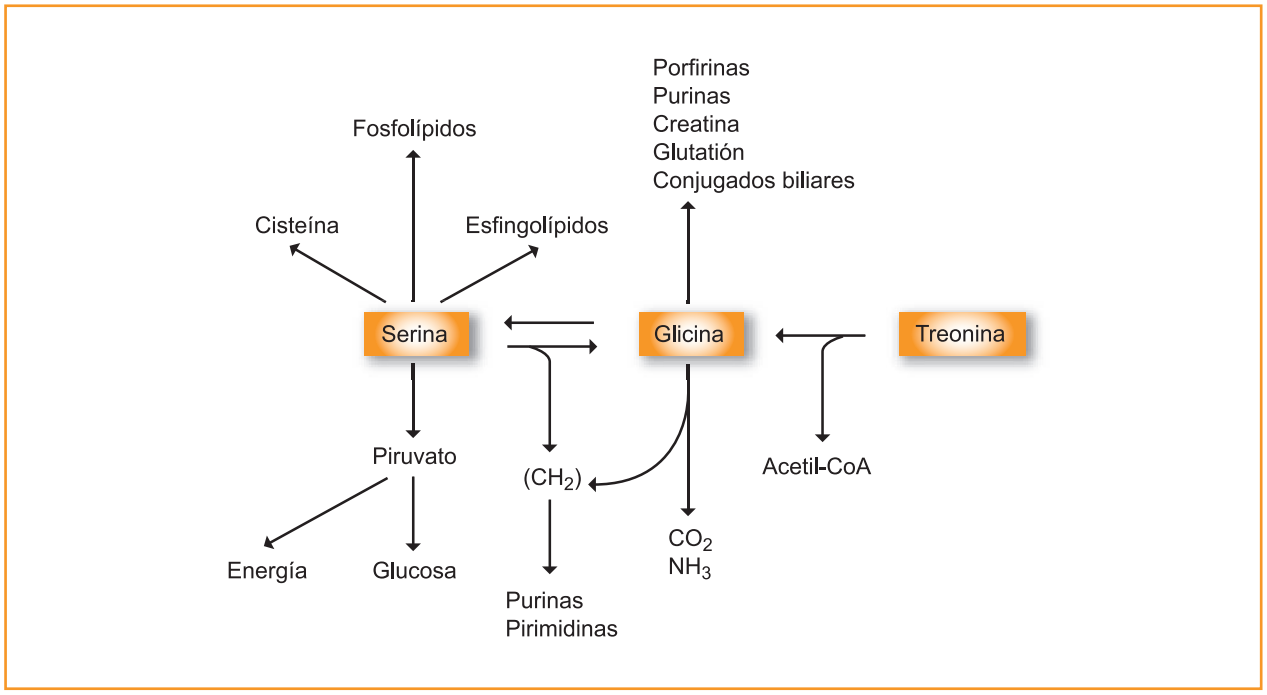


Figura 20. *Principales destinos metabólicos de la serina, la glicina y la treonina.*

piridoxal-fosfato. La metabolización posterior del ácido α-cetobutírico origina propionil-CoA. Por su parte, la cisteína puede originar taurina o degradarse hasta piruvato.

En la **Figura 21** se esquematizan las vías metabólicas de la metionina que se acaban de describir. Como puede observarse, la homocisteína es un intermediario que puede ser metabolizado por dos vías diferentes:

- En una de ellas, su conversión en metionina, se necesita el concurso de los derivados de dos vitaminas: fólico y vitamina B_{12}.
- En la otra, su conversión en cisteína, se necesita la acción coenzimática del piridoxal-fosfato, derivado de otra vitamina: la piridoxina.

Puede deducirse, por tanto, que la carencia de alguna de estas vitaminas, especialmente la del ácido fólico, puede desencadenar un aumento en las concentraciones de homocisteína. Este aminoácido no proteinogénico tiene carácter aterotrombótico, por lo que su aumento en plasma puede originar problemas cardiovasculares (*ver Capítulo 1.22*).

El aumento de la concentración de homocisteína en sangre puede deberse también a un fallo congénito en la cistationina sintasa.

Otra posibilidad de reacción de la S-adenosil metionina es la transferencia del grupo aminopropilo, en una reacción en la que se produce también una descarboxilación. El grupo aminopropilo se utiliza sobre todo en la síntesis de poliaminas a partir de ornitina **(Figura 22)**.

La cisteína es un aminoácido de gran interés metabólico. Aparte de ser un precursor de la taurina, forma parte de moléculas tan importantes como el coenzima-A o el glutatión. Este compuesto cumple funciones antioxidantes (*ver Capítulo 1.19*), pero, además, se utiliza en la conjugación de xenobióticos o en la formación de leucotrienos. El glutatión puede funcionar, por otra parte, como un mecanismo de transporte de cisteína desde el hígado, principal sede de su formación, hasta las células de pulmón o riñón.

Una característica importante de la cisteína es la facilidad de su oxidación a cistina **(Figura 23)**. Análogamente, la homocisteína se oxida a homocistina. Por eso, las concentraciones de cistina y homocistina son superiores en sangre a las de cisteína y homocisteína. Por otra parte, el acúmulo de cistina en orina, producido fundamentalmente por problemas congénitos de transporte (cistinuria) puede traducirse en la formación de cálculos renales.

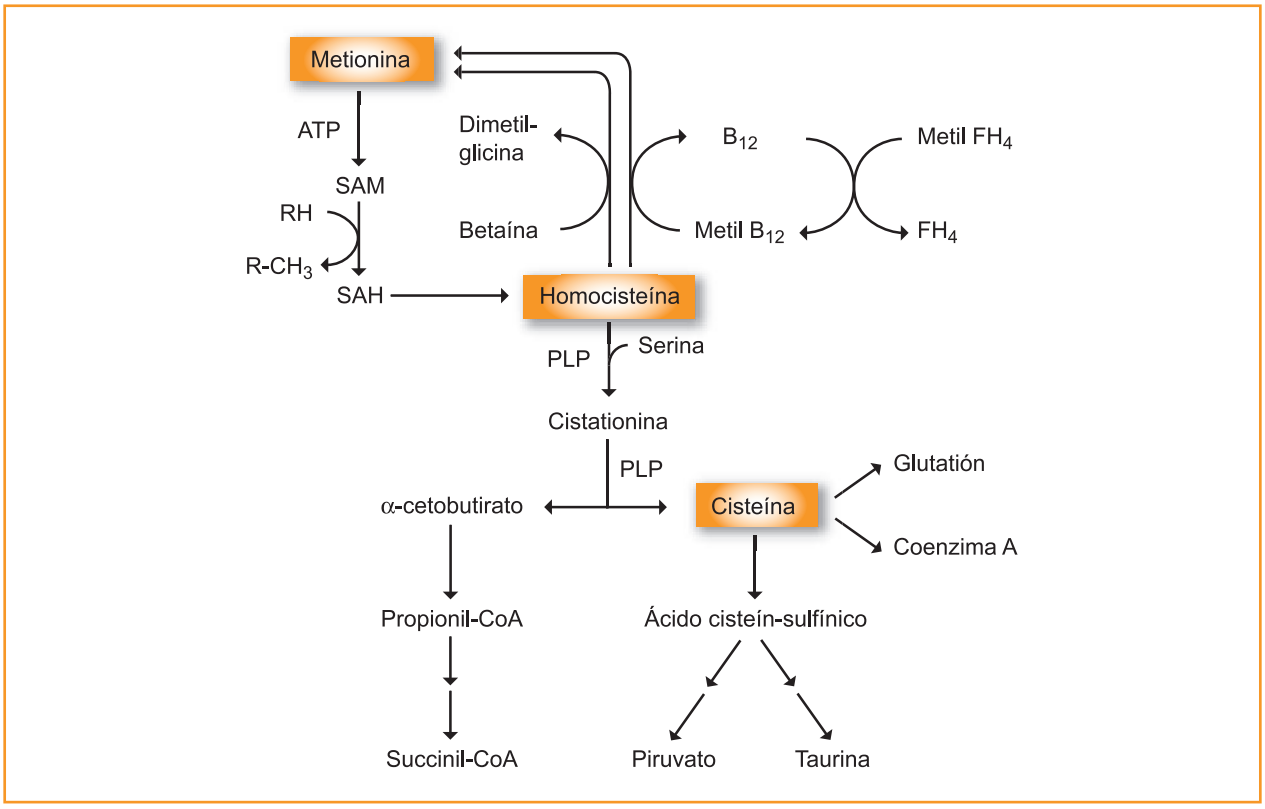


Figura 21. *Metabolismo de los aminoácidos azufrados. ATP: adenosín-trifosfato; SAM: S-adenosil-metionina; SAH: S-adenosil-homocisteína; PLP: piridoxal-fosfato; B_{12}: vitamina B_{12}; FH_4: ácido tetrahidrofólico.*

7.4. Prolina, arginina e histidina

La prolina y la arginina son dos aminoácidos no esenciales que se forman a partir del glutamato y que pueden originar glutamato en su metabolización. También la histidina, que es un aminoácido esencial, se metaboliza hasta glutamato.

Las interrelaciones metabólicas entre prolina, arginina y glutamato están esquematizadas en la **Figura 24**. El nexo de unión entre los tres aminoácidos es el semialdehído glutámico. Este compuesto se forma de manera reversible a partir del glutamato. A su vez, el semialdehído glutámico puede transformarse reversiblemente en pirrolina-5-carboxilato para conectar con la formación o catabolización de la prolina. Alternativamente, el semialdehído glutámico puede transformarse reversiblemente por transaminación en ornitina. La síntesis y la degradación de la arginina están conectadas con la ornitina a través de las reacciones del ciclo de la urea. Como se ha considerado anteriormente (*ver apartado 5.1*), este ciclo funciona en el hígado de manera cerrada, por lo que no hay formación ni degradación neta de arginina. Sin embargo, en la mucosa intestinal puede sintetizarse citrulina, que posteriormente se transforma en arginina en el riñón.

La degradación de la histidina se produce fundamentalmente en el hígado y en las células de la piel. El proceso comienza con la desaminación del aminoácido gracias a la actividad enzimática de la histidasa, con formación de ácido urocánico. El proceso termina aquí en los queratinocitos, porque el ácido urocánico se comporta como protector cutáneo por su capacidad para absorber las radiaciones ultravioleta. En el hígado, el ácido urocánico es hidrolizado y transformado en varias etapas enzimáticas en glutamato. Es importante resaltar que la última etapa degradativa supone la formación de un derivado activo del ácido tetrahidrofólico: el N^5-formimino-FH_4, utilizable en reacciones biosintéticas (*ver Capítulo 1.22*). La histidasa hepática es una enzima muy regulada. El aspecto más notable de esta regulación es su inducción por glucagón, cortisol y estrógenos. El

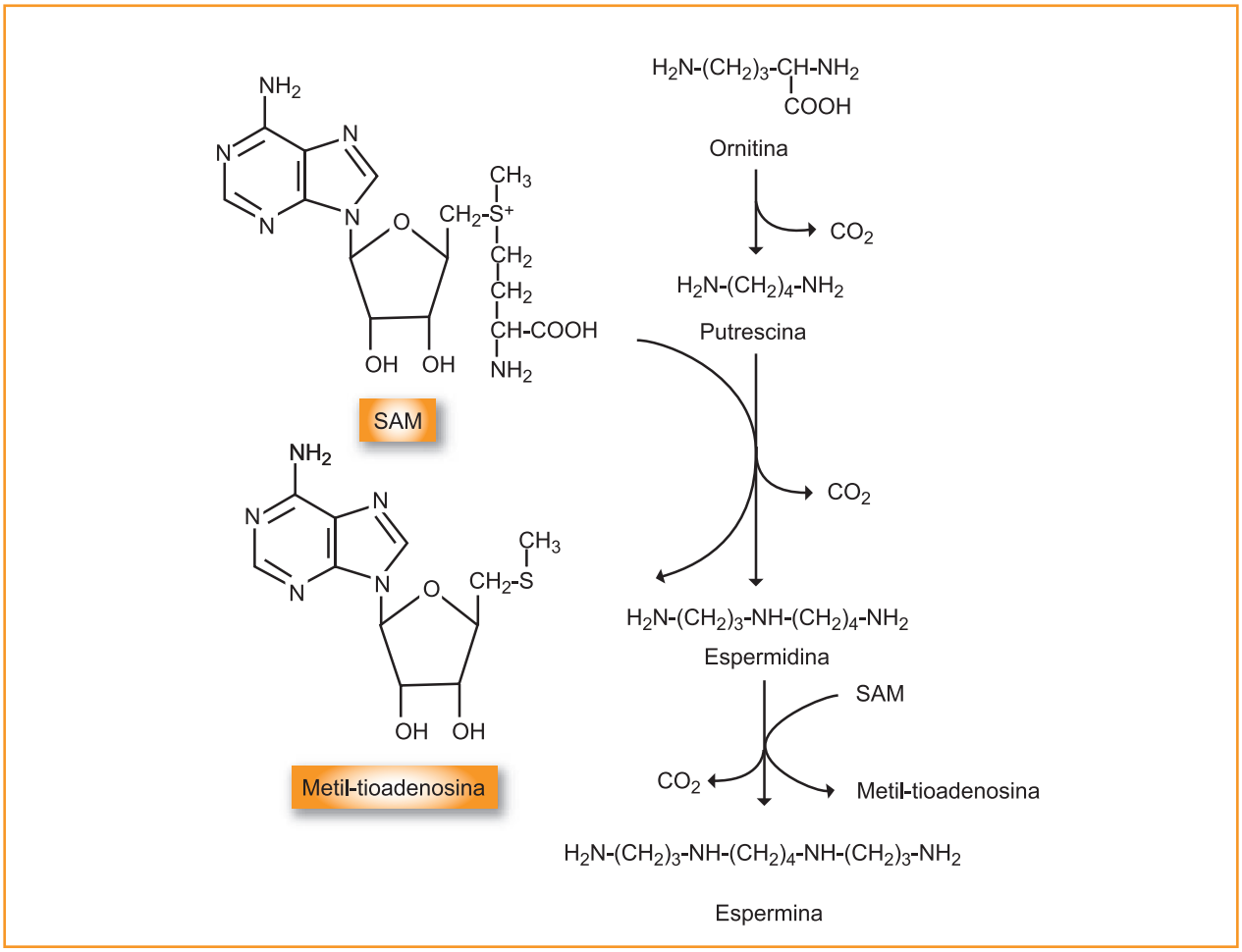


Figura 22. *Síntesis de poliaminas.*

metabolismo de la histidina está esquematizado en la **Figura 25**.

El carácter esencial de la histidina está bien establecido en la actualidad. Se sabe que este aminoácido no se puede sintetizar en el organismo pero, por otra parte, es difícil demostrar su deficiencia. Ello se debe a que es un aminoácido muy abundante en determinadas proteínas como la hemoglobina o las proteínas musculares. En el músculo existe, además, una gran riqueza en dipéptidos que contienen histidina (carnosina, anserina) y cuya función no está clara. Por ello, la falta de histidina en la dieta se compensa en parte por la utilización de la histidina de estas proteínas y dipéptidos.

Las funciones metabólicas principales de la prolina, la ornitina, la arginina y la histidina se describen a continuación:

a) Prolina. Este aminoácido no parece tener derivados metabólicamente activos. Conviene recordar, sin embargo, que es un aminoácido fundamental en la estructura del colágeno, sobre todo tras su transformación postraduccional en hidroxiprolina, con el concurso de la vitamina C (*ver Capítulo 1.20*). Ello podría explicar su papel beneficioso en la curación de heridas.

b) Ornitina. Este aminoácido no es proteinogénico, pero se utiliza en la síntesis de poliaminas en colaboración con la S-adenosil-metionina (*ver apartado 7.3*). Las poliaminas favorecen la proliferación celular.

c) Arginina. Además de su implicación como sustrato y regulador del ciclo de la urea, la arginina se utiliza para la síntesis de la creatina y del óxido nítrico. La creatina es una molécula que sirve para almacenar energía (*ver Capítulo 1.2, apartado 3.1.4*). El óxido nítrico es una pequeña molécula de una

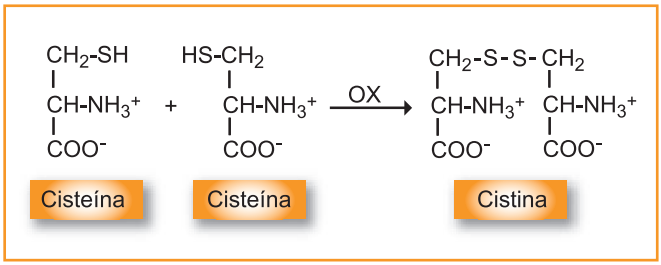


Figura 23. *Formación de cistina por oxidación de la cisteína.*

enorme funcionalidad, cuya faceta más interesante es su carácter vasodilatador. Las funciones metabólicas de la arginina se estudian con más detalle en el Capítulo 1.15.

d) Histidina. Ya se ha mencionado el interés cutáneo del ácido urocánico producido por desaminación de la histidina. La descarboxilación de la histidina en los mastocitos produce una de las aminas biógenas mejor conocidas, la histamina, implicada básicamente en los procesos anafilácticos.

7.5. Aminoácidos aromáticos

La fenilalanina es un aminoácido esencial. Su principal vía metabólica es la transformación en tirosina, que se lleva a cabo fundamentalmente en el hígado mediante un sistema enzimático (la fenilalanina hidroxilasa) que utiliza tetrahidrobiopterina como cofactor. La tirosina es precursora, a su vez, de hormonas tiroideas, catecolaminas y melanina. La tirosina puede degradarse también con fines energéticos. Esta degradación implica la rotura del anillo aromático con formación final de fumarato y acetoacetato. Por eso, la fenilalanina y la tirosina pueden considerarse al mismo tiempo aminoácidos glucogénicos y cetogénicos **(Figura 26)**.

Existen diversos tipos de anomalías genéticas que afectan al metabolismo de estos aminoácidos, destacando entre ellas la que afecta a la transformación de fenilalanina en tirosina por fallo en la fenilalanina hidroxilasa (fenilcetonuria). En el Capítulo 4.14 se describen con detalle las alteraciones metabólicas correspondientes a estas enzimopatías.

7.6. Aminoácidos ramificados

Los aminoácidos valina, leucina e isoleucina comparten varias características: su estructura química, que contiene un resto alifático ramificado, su carácter esencial y su catabolización energética preferente en el músculo y otros tejidos periféricos.

Las dos primeras etapas de la degradación de estos aminoácidos son la transaminación y la posterior descarboxilación oxidativa de los cetoácidos originados **(Figura 26)**. En ambos casos se utiliza un mismo sistema enzimático para los tres aminoácidos. La actividad de la transaminasa de los aminoácidos ramificados es muy pequeña en hígado, lo que explica que estos aminoácidos no se metabolicen de forma importante en este órgano, al contrario que los demás. En cambio, las enzimas hepáticas que catalizan la descarboxilación oxidativa de los cetoácidos correspondientes (*ver Capítulo 1.21, apartado 2.4*) son plenamente activas. Por tanto, existe la posibilidad de que el hígado catabolice los cetoácidos liberados por el músculo y demás tejidos periféricos.

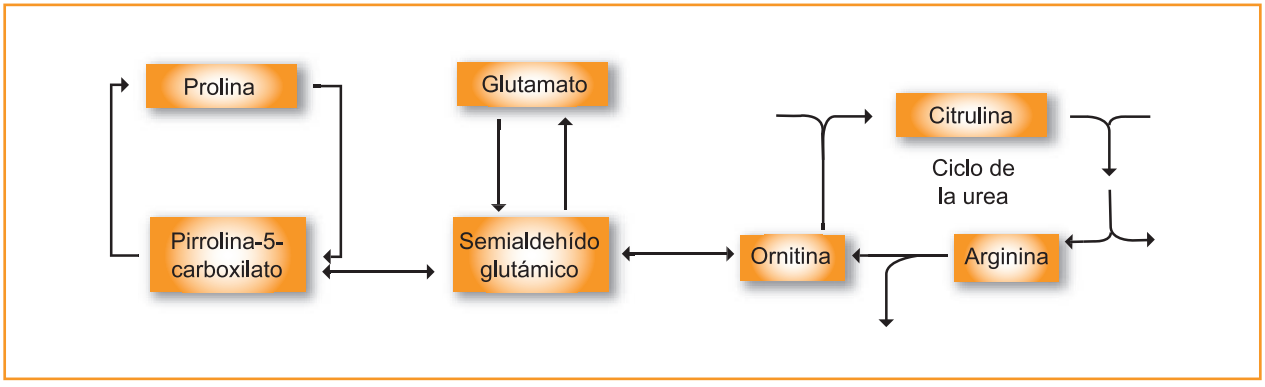


Figura 24. *Interrelaciones metabólicas entre glutamato, prolina y arginina.*

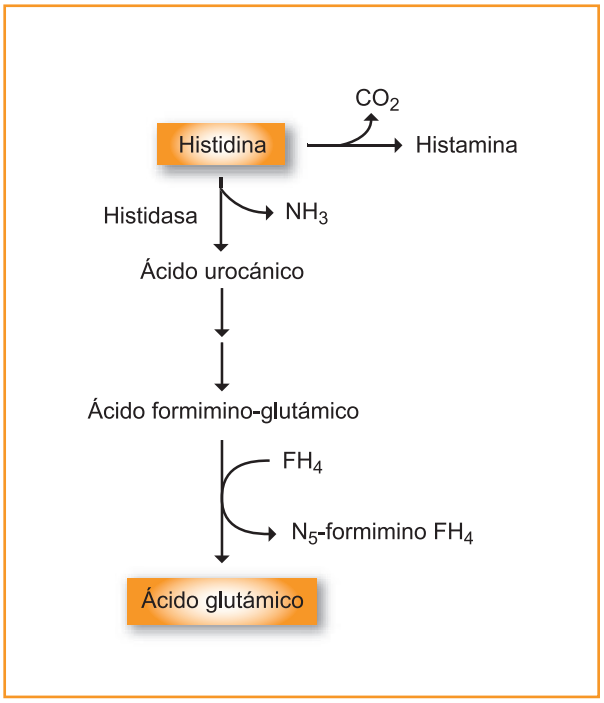


Figura 25. *Metabolismo de la histidina. FH_4: ácido tetrahidrofólico.*

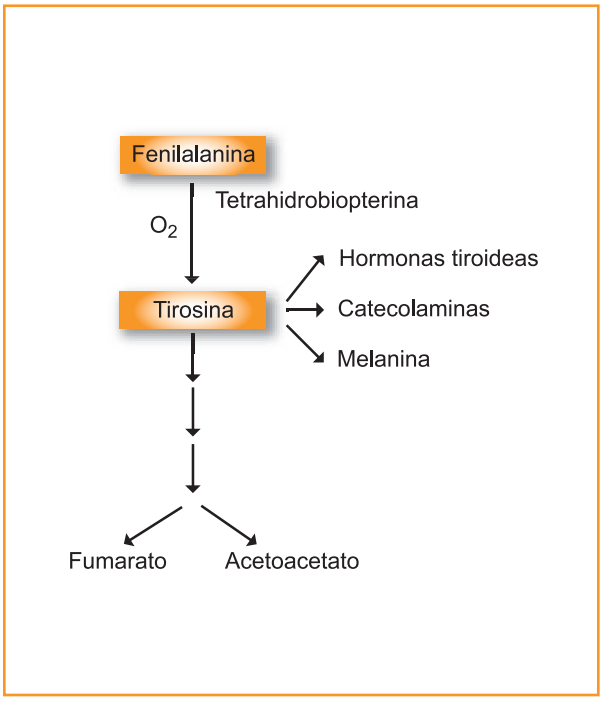


Figura 26. *Metabolismo de los aminoácidos aromáticos.*

La degradación de los acil-CoA originados tras las dos primeras etapas se realiza por rutas metabólicas lógicamente distintas entre sí, pero existen ciertas analogías en las reacciones enzimáticas utilizadas. Algunas de estas reacciones son semejantes, además, a las que constituyen la β-oxidación de los ácidos grasos (*ver Capítulo 1.12*). Como puede observarse en la **Figura 27**, el metabolismo de la valina origina succinil-CoA; el de la isoleucina, succinil-CoA y acetil-CoA; y el de la leucina, acetil-CoA y acetoacetato. Por ello, la valina puede considerarse glucogénica; la leucina, cetogénica; y la isoleucina, glucogénica y cetogénica.

No se conocen derivados nitrogenados funcionalmente importantes de los aminoácidos ramificados. Está claro que su destino metabólico principal es la producción directa o indirecta de energía.

7.7. Triptófano y lisina

El triptófano y la lisina son dos aminoácidos esenciales de constitución química muy diferente pero que coinciden en su degradación en un metabolito común, el ácido α-cetoadípico.

La degradación del triptófano está esquematizada en el **Figura 28**. Es destacable que se trata de una vía catabólica muy regulada. Por una parte, la primera enzima, triptófano oxigenasa, es inducida por cortisol en el hígado. Además, la presencia de cantidades suficientes de este aminoácido protege a la enzima de su degradación. Otros aspectos interesantes son que parte de la molécula del triptófano origina alanina y que existe una vía secundaria que lleva a la formación de ácido nicotínico (*ver Capítulo 1.21, apartado 4.3*). Finalmente, el producto final de esta vía degradativa es el acetoacetil-CoA. Dado que la metabolización del triptófano origina alanina y acetoacetil-CoA, este aminoácido puede considerarse a la vez glucogénico y cetogénico.

Aunque cuantitativamente mucho menos importante, existe otra vía metabólica para el triptófano que origina la producción de dos derivados de gran importancia fisiológica: la serotonina y la melatonina **(Figura 29)**. La serotonina es una molécula implicada, entre otras funciones, en la regulación del apetito. La melatonina es la hormona de la glándula pineal, a la que se le ha atribuido cierta capacidad de retrasar el envejecimiento.

La degradación de la lisina está esquematizada en la **Figura 30**. Los dos grupos nitrogenados de este

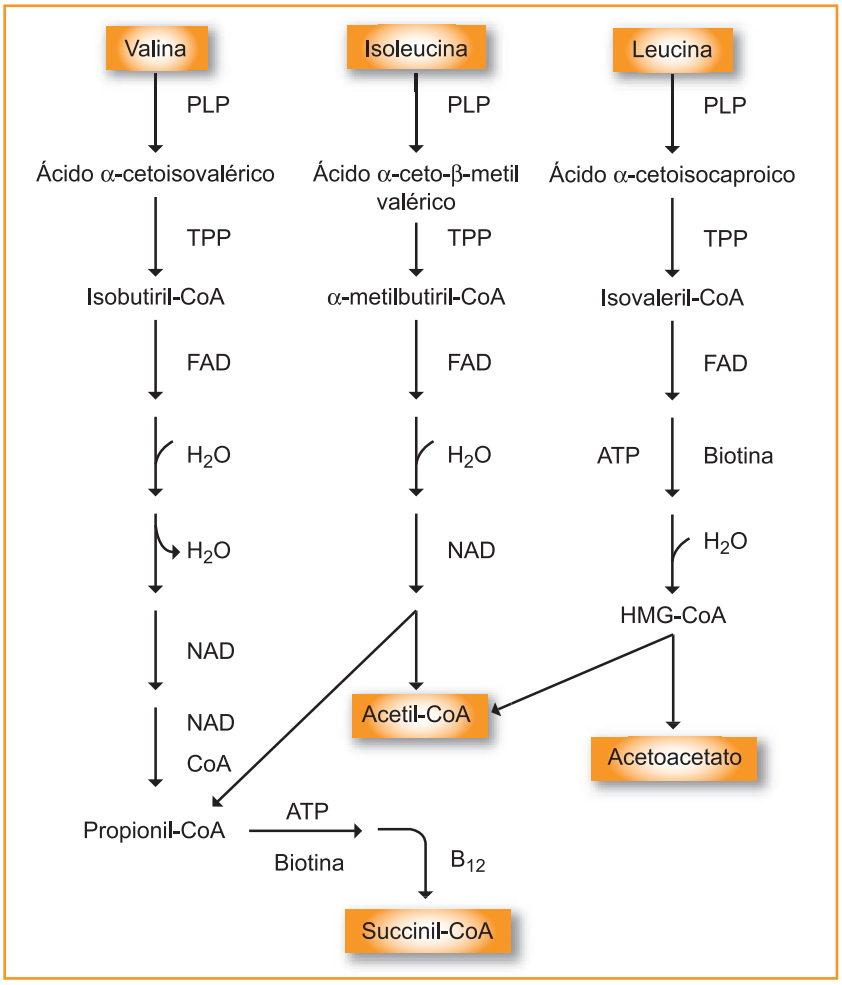


Figura 27. *Metabolismo de los aminoácidos ramificados. PLP: piridoxal-fosfato; TPP: pirofosfato de tiamina; FAD: flavín-adenín-dinucleótido; ATP: adenosín-trifosfato; NAD: nicotín-adenín-dinucleótido; CoA: coenzima A; B_{12}: vitamina B_{12}; HMG-CoA: hidroximetil-glutaril-coenzima A.*

aminoácido son transferidos al α-cetoglutarato, aunque por mecanismos diferentes, en la vía degradativa principal que se realiza en el hígado. En los tejidos extrahepáticos, sin embargo, uno de los grupos nitrogenados es separado como amoniaco por la lisina oxidasa. Finalmente, el esqueleto carbonado de la lisina origina acetoacetil-CoA, por lo que este aminoácido puede considerarse cetogénico. Es interesante subrayar que la lisina, de manera análoga a la prolina, se incorpora a la estructura del colágeno y juega un papel fundamental en la consistencia de esta proteína tras su conversión en hidroxilisina con el concurso de la vitamina C (*ver Capítulo 1.20*). Entre los derivados nitrogenados de la lisina, el más interesante, sin duda, es la carnitina, compuesto fundamental para la entrada de los ácidos grasos de cadena larga en las mitocondrias (*ver Capítulo 1.12*).

8. Metabolismo de los aminoácidos en los distintos tejidos

Como se ha venido describiendo en los apartados anteriores, el metabolismo de los aminoácidos presenta claras diferencias en los distintos tejidos. A continuación se resumen las rutas metabólicas más características de los principales órganos y tejidos.

8.1. Metabolismo de los aminoácidos en el enterocito

Los aminoácidos que llegan al enterocito pueden seguir varias vías metabólicas entre las que destacan su utilización para la síntesis de proteínas mucosales, intercambios entre ellos, consumo energético y liberación a la sangre portal.

Los enterocitos utilizan hasta un 10% de los aminoácidos absorbidos en sintetizar proteínas de secreción (apoproteínas, por ejemplo, como se vio en el *Capítulo 1.11*), proteínas celulares de recambio y proteínas destinadas al reemplazamiento de las células perdidas por descamación. Los aminoácidos luminales son imprescindibles para los enterocitos. De hecho, al cesar este aporte, por ejemplo, durante la nutrición parenteral total, se produce la atrofia de estas células.

Las células de la mucosa realizan también algunas transformaciones en los aminoácidos absorbidos, especialmente la transaminación del aspartato y del glutamato. Como consecuencia de ello, la sangre portal no contiene cantidades importantes de estos aminoácidos sino de su producto metabólico

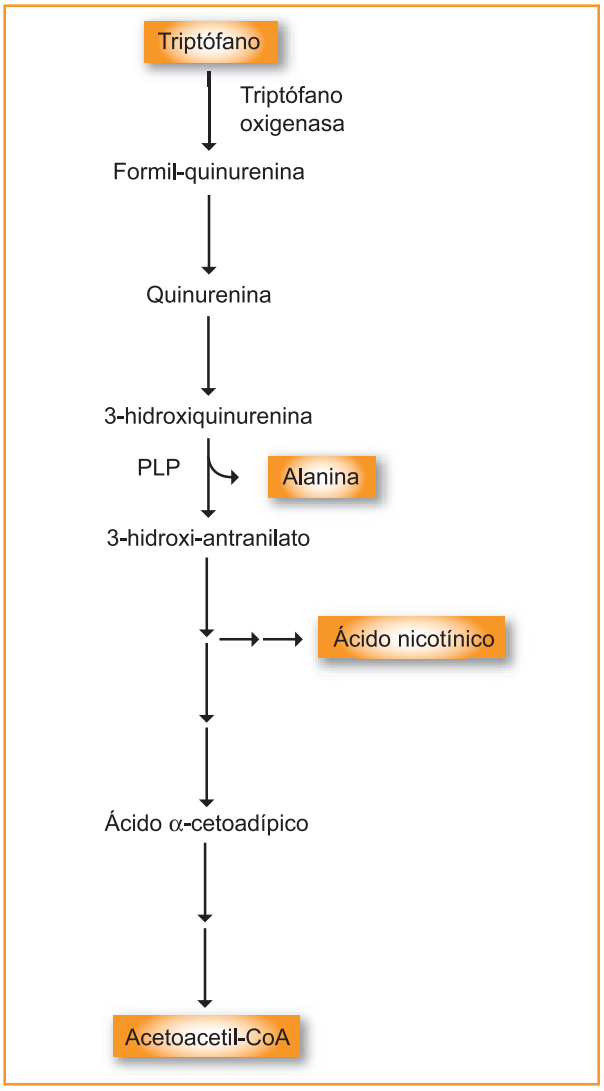


Figura 28. *Catabolismo del triptófano. PLP: piridoxal-fosfato.*

nitrogenado, que es la alanina. Se cree que estas transformaciones tienen por objeto evitar la posible toxicidad de los aminoácidos dicarboxílicos a nivel del sistema nervioso central. Efectivamente, tanto el aspartato como el glutamato son tóxicos para la región hipotalámica de la rata y el ratón, aunque esta toxicidad no ha sido demostrada en los primates.

También la glutamina es metabolizada en las células de la mucosa. Se aprovecha así su esqueleto carbonado con fines energéticos y su nitrógeno amídico en la síntesis de bases púricas. Esta vía metabólica es muy activa en este tejido, que tiene una gran capacidad de proliferación para compensar las pérdidas por descamación. La glutamina no procede solamente de la absorción, sino que es también extraída del plasma (hasta un 25% del total). En la **Figura 31** se esquematizan las vías metabólicas características de las células de la mucosa intestinal que se acaban de describir.

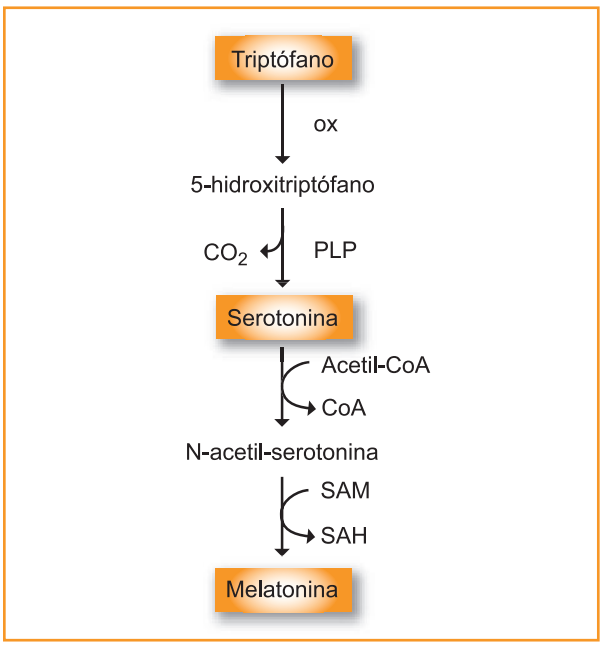


Figura 29. *Formación de serotonina y melatonina a partir de triptófano. PLP: piridoxal-fosfato; CoA: coenzima A; SAM: S-adenosil-metionina; SAH: S-adenosil-homocisteína.*

El metabolismo proteico del enterocito, al contrario que los del hígado y el músculo, no está sujeto a control hormonal.

8.2. Metabolismo de los aminoácidos en el hígado

El hígado juega un papel fundamental en el metabolismo nitrogenado. Los aminoácidos que llegan por la vena porta pueden seguir alguna de estas vías **(Figura 32)**:

a) Pasar a la circulación sistémica por la vena suprahepática sin metabolización.

b) Originar péptidos, proteínas y otros derivados metabólicos nitrogenados como purinas y pirimidinas, porfirinas, aminoalcoholes, etc. Algunos de estos compuestos, fundamentalmente ciertas proteínas, serán posteriormente liberadas a la circulación, como la albúmina y demás proteínas plasmáticas.

c) Catabolizarse para producir energía. Como se ha considerado anteriormente, este destino

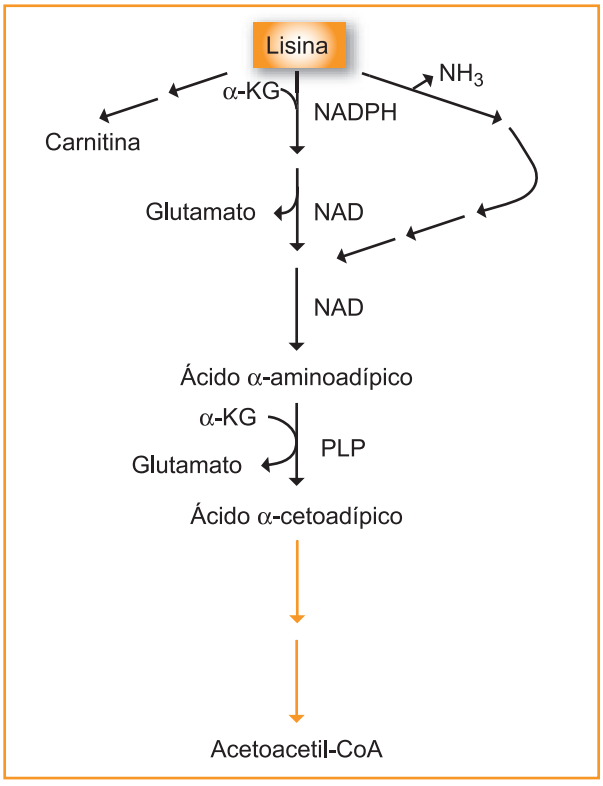


Figura 30. *Metabolismo de la lisina. PLP: piridoxal-fosfato; NAD: nicotín-adenín-dinucleótido; NADPH: nicotín-adenín-dinucleótido-fosfato reducido; CoA: coenzima A; FAD: flavín-adenín-dinucleótido.*

sólo es importante cuando el aporte de proteínas de la dieta es grande. Por otra parte, como también se ha subrayado, los aminoácidos ramificados (valina, leucina e isoleucina) no son catabolizados de forma importante en el hígado, que carece de las transaminasas que inician su proceso degradativo. En cambio, estos aminoácidos se metabolizan activamente en el músculo.

d) Utilizarse para sintetizar glucosa, cuando la dieta carezca de suficientes hidratos de carbono.

8.3. Metabolismo de los aminoácidos en el músculo

La captación muscular de aminoácidos y su utilización en la síntesis de proteínas es estimulada por la insulina, mientras que los glucocorticoides tienen efectos opuestos. Después de la ingestión de alimento, por tanto, predomina la captación y utilización de los aminoácidos para la síntesis proteica, mientras que en los periodos interdigestivos y en el ayuno predomina la liberación de aminoácidos con fines gluconeogénicos.

Como se ha considerado en el apartado 7.1, la alanina es el principal aminoácido gluconeogénico. El origen muscular de este aminoácido no se refiere únicamente al que se encuentra inicialmente en las proteínas tisulares, sino que incluye además su formación a partir de piruvato mediante la transferencia del grupo amino de otros aminoácidos, sobre todo de los aminoácidos ramificados **(Figura 33)**.

El piruvato puede provenir de la glucólisis. Como la glucosa procede, a su vez, de la alanina a través de la gluconeogénesis hepática, se puede establecer un ciclo intertisular "glucosa-alanina" **(Figura 34)**.

Otro aminoácido liberado por el músculo es la glutamina, que se origina por vías similares a las descritas para la alanina. Una gran parte de la glutamina es captada por las células de la mucosa intestinal, como ya se ha comentado. Allí se transforma finalmente en alanina, que puede alcanzar el hígado para ser utilizada como sustrato gluconeogénico.

Otra gran parte de la glutamina plasmática puede ser metabolizada por la corteza renal. Como ya se ha comentado, en este territorio tisular, el esqueleto carbonado de la glutamina se transforma en glucosa, mientras que los grupos nitrogenados se excretan como sales amónicas, contribuyendo a la normalización del equilibrio ácido-base. Por tanto, la gluconeogénesis renal, y, por consiguiente, la captación de glutamina por este tejido, son procesos que suceden en condiciones de acidosis metabólica, como en el ayuno o la diabetes (*ver apartado 5.2*) **(Figura 12)**.

8.4. Metabolismo de los aminoácidos en el sistema nervioso

Las neuronas utilizan los aminoácidos, sobre todo por sus funciones neurotransmisoras. El aminoácido que se capta en mayor cantidad es, lógicamente, el glutamato, debido a sus propias funciones y a las de sus derivados, el ácido γ-aminobutírico y la glutamina. La formación de este último aminoácido es especialmente importante porque capta el amoniaco que se forma en las células nerviosas y que es especialmente tóxico para las mismas.

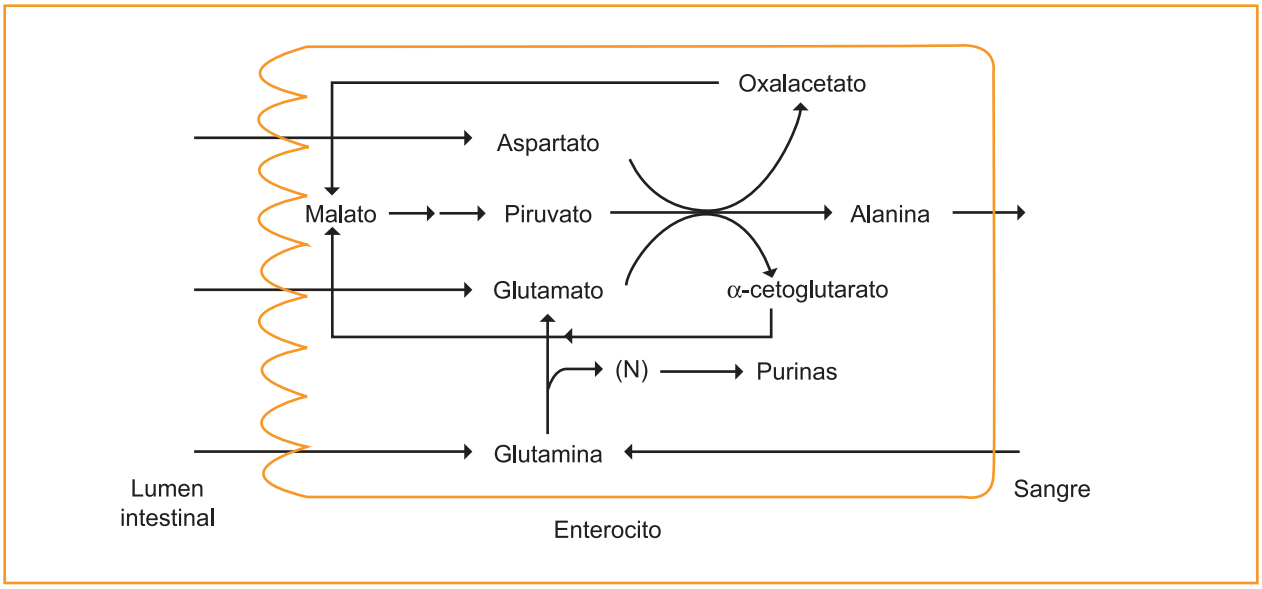


Figura 31. *Metabolismo de los aminoácidos en el enterocito.*

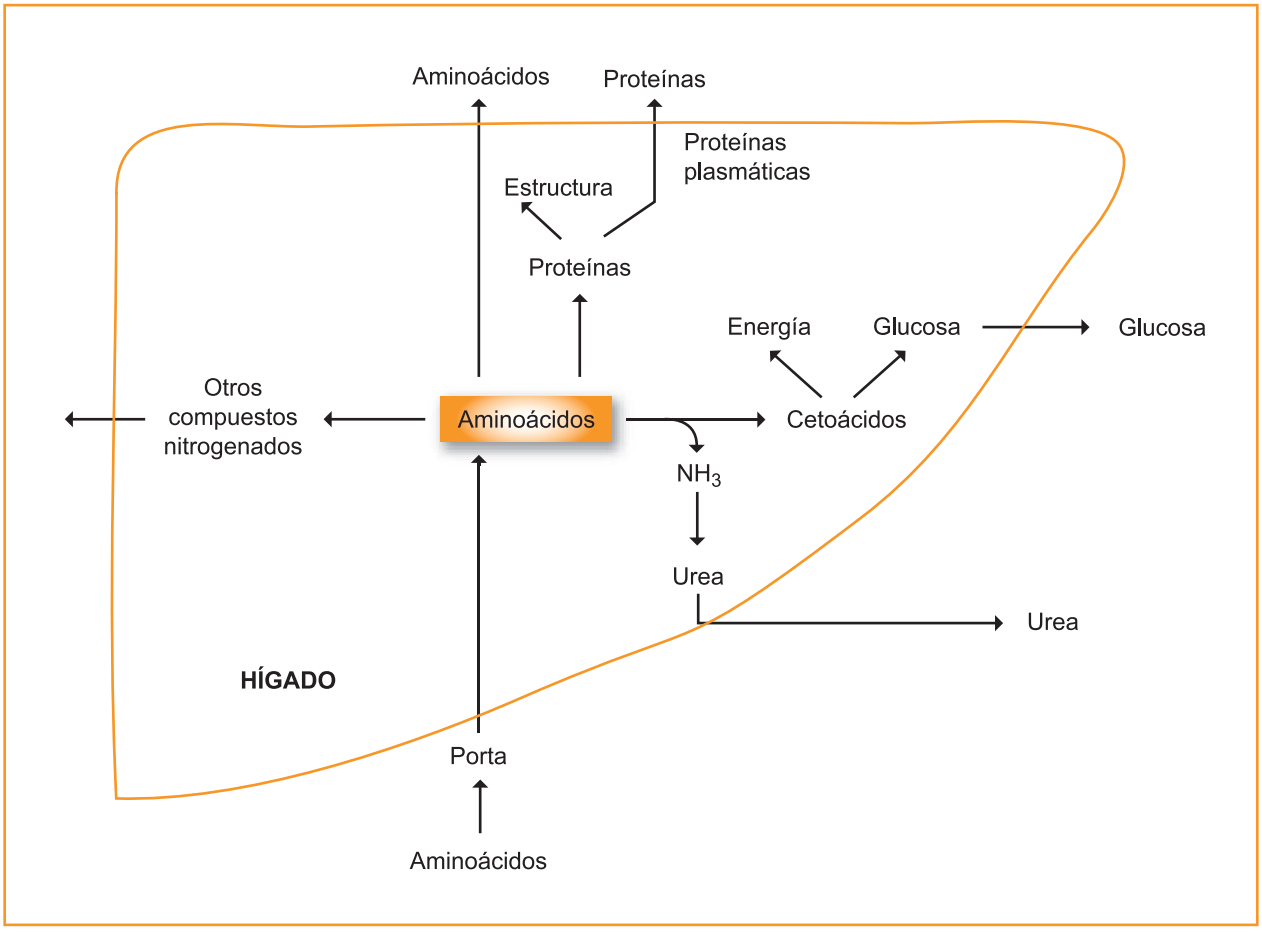


Figura 32. *Metabolismo de los aminoácidos en el hígado.*

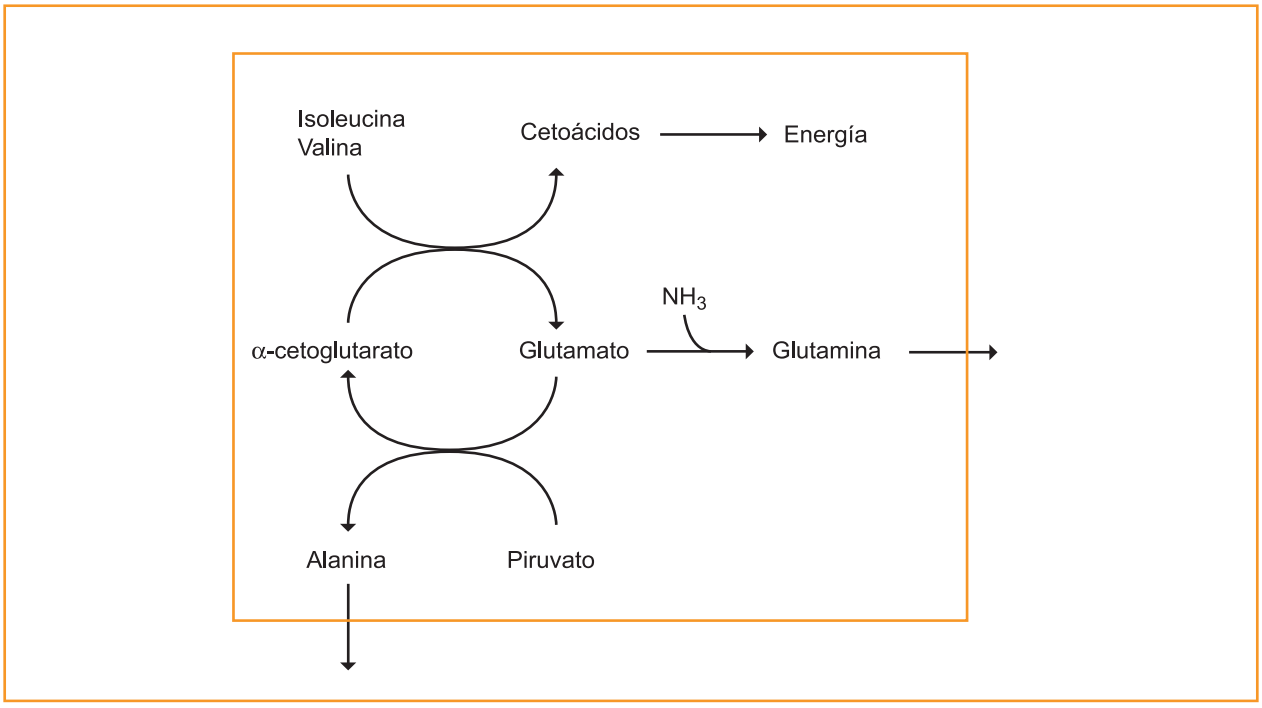


Figura 33. *Metabolismo de los aminoácidos en el músculo.*

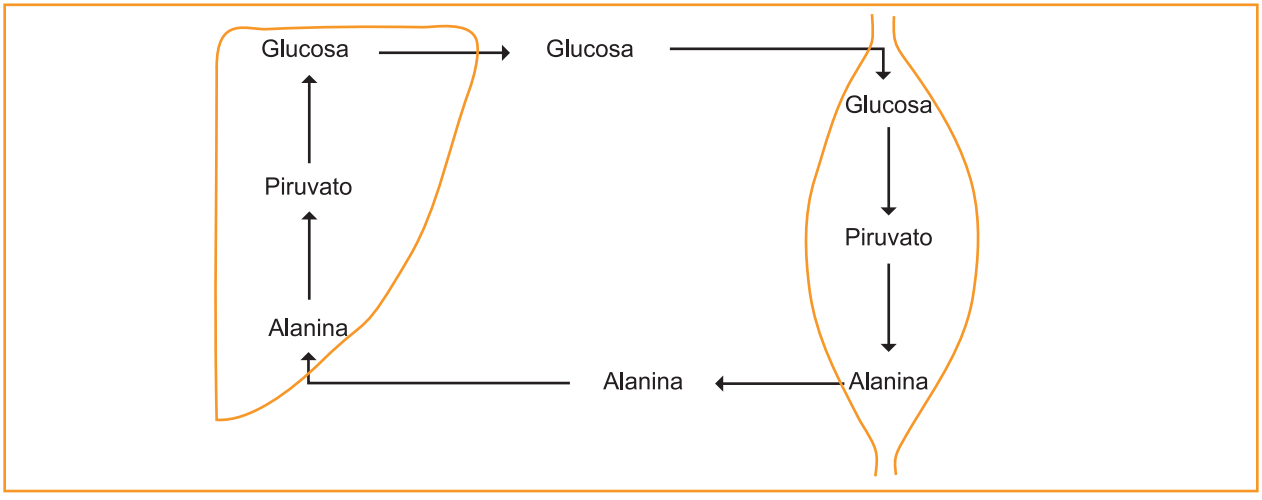


Figura 34. *Ciclo glucosa-alanina.*

Como ocurre en todos los tejidos, los aminoácidos son captados por las células mediante la utilización de mecanismos de transporte que tienen la peculiaridad de que son compartidos por grupos de aminoácidos. Para el sistema nervioso central es especialmente interesante el hecho de que los aminoácidos aromáticos y los ramificados compartan el mismo sistema de transporte. Cuando existe insuficiencia hepática, los aminoácidos aromáticos no se metabolizan en el hígado, mientras que los aminoácidos ramificados se metabolizan adecuadamente a nivel muscular. En estas condiciones, la entrada de los aminoácidos aromáticos al cerebro está facilitada por la falta de competencia con los ramificados y se facilita la formación de los derivados activos de los aminoácidos aromáticos, algunos de los cuales son responsables de la encefalopatía correspondiente.

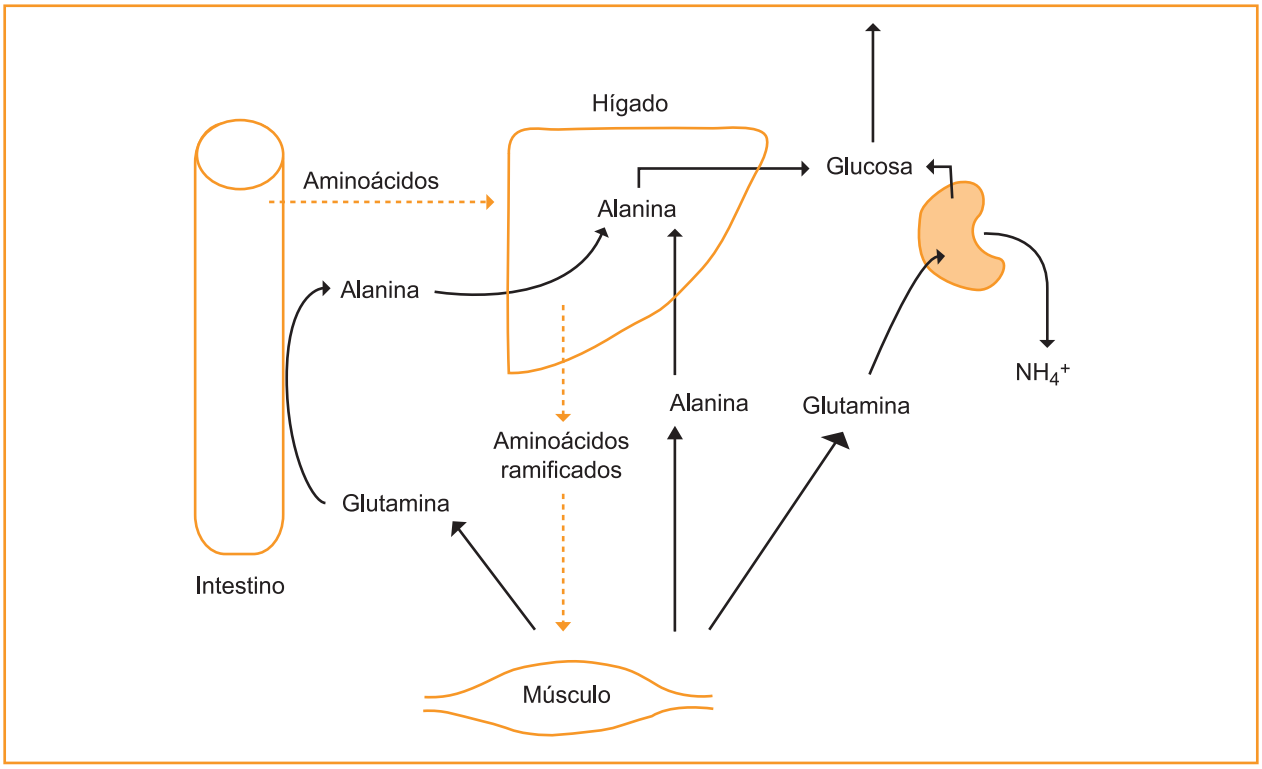


Figura 35. *Principales movimientos intertisulares de los aminoácidos: a) tras la digestión (línea discontinua); b) durante el ayuno (línea continua).*

De ahí, la conveniencia de utilizar dietas ricas en aminoácidos ramificados y pobres en aromáticos en estas condiciones (*ver Capítulo 4.31*).

9. Interrelaciones tisulares. Aminoácidos plasmáticos

El aminograma plasmático es el resultado de una red compleja de interacciones entre los tejidos, que incluye fenómenos de liberación y de captación tisular. De hecho, la avidez tisular por los aminoácidos explica que su concentración plasmática global (2 mM) sea 10 veces menor que la tisular (20 mM). Además, la composición plasmática es muy constante, a pesar de los ingresos discontinuos que caracterizan nuestra forma de alimentación.

La composición del aminograma plasmático puede afectarse, no obstante, por las condiciones dietéticas. Así, las ingestas elevadas de hidratos de carbono hacen aumentar la captación de los aminoácidos por el músculo a través de la liberación de insulina. Por otra parte, las carencias dietéticas en aminoácidos esenciales pueden reflejarse en el aminograma. De todas maneras, los estados de desnutrición proteica se valoran mejor con otros datos analíticos como los valores plasmáticos de albúmina, prealbúmina o transferrina.

Un indicador interesante del catabolismo proteico muscular es la determinación de 3-metil-histidina en orina. Este aminoácido es característico de las proteínas miofibrilares. Se origina por metilación de la histidina previamente incorporada a la cadena peptídica. Una vez hidrolizada la proteína correspondiente, la N-metil-histidina no es reutilizable y se excreta en su totalidad. En la actualidad se está realizando la determinación sistemática de este aminoácido en la orina de pacientes sometidos a nutrición parenteral total.

En la **Figura 35** se ilustran los principales movimientos intertisulares de los aminoácidos tras la digestión, a), y en las etapas de ayuno, b).

10. Resumen

- Existen muchas sustancias nitrogenadas en el organismo,todas las cuales, con la excepción de los compuestos vitamínicos, derivan metabólicamente de los aminoácidos. Algunas de estas sustancias, como, por ejemplo, las purinas o la colina, pueden ser aportadas por la alimentación, pero existe la capacidad de síntesis endógena, fundamentalmente en el hígado. Por lo que se refiere a los aminoácidos, deben ser aportados globalmente por la dieta en cantidad suficiente. Aunque muchos de ellos pueden sintetizarse en el organismo a partir de algunos metabolitos de los azúcares, necesitan un aporte de nitrógeno que sólo puede provenir de los otros aminoácidos que ingresan en la alimentación.

- El principal destino metabólico de los aminoácidos es su incorporación a proteínas, péptidos y demás sustancias nitrogenadas. Sin embargo, cuando la ingesta proteica es elevada, los aminoácidos pueden utilizarse también como sustratos energéticos o gluconeogénicos. En estos casos, el nitrógeno aminoacídico origina amoniaco, que es tóxico para el organismo. La vía fundamental para eliminar este amoniaco es su transformación en urea por el hígado y su posterior excreción renal. Existe también una vía metabólica adicional de excreción que consiste en la formación de sales amónicas por la corteza renal. Esta última vía metabólica tiene lugar sobre todo cuando existen condiciones de acidosis metabólica (ayuno, diabetes, etc.).

- Existen nueve aminoácidos claramente esenciales: leucina, valina, isoleucina, treonina, metionina, triptófano, lisina, fenilalanina e histidina. Ninguno de ellos se puede sintetizar en el organismo y tienen que ser aportados por la dieta. Un caso especial es el de la cisteína y la tirosina, que pueden formarse respectivamente a partir de la metionina y de la fenilalanina, que son esenciales; sin embargo, en algunos casos, especialmente en niños prematuros, su formación podría ser deficiente por inmadurez de las enzimas implicadas. En cuanto a la arginina, aunque se puede formar en grandes cantidades en el ciclo de la urea, su destino más importante es degradarse a ornitina. Por ello, puede ser interesante la suplementación con arginina en determinadas situaciones metabólicas. A todos estos aminoácidos (cisteína, tirosina y arginina) se les puede denominar aminoácidos semiesenciales o condicionalmente esenciales.También podrían incluirse en este grupo otros aminoácidos como la glutamina, por sus importantes funciones fisiológicas.

- El metabolismo de los aminoácidos es bastante diferente en los distintos tejidos y órganos. La mayoría de los aminoácidos se metabolizan en el hígado, con la excepción de los aminoácidos ramificados, que son utilizados por el músculo y los tejidos periféricos. Aunque hay un gran intercambio de aminoácidos entre los tejidos, el aminograma plasmático es bastante estable en ausencia de graves alteraciones metabólicas.

11. Bibliografía

Baynes J, Dominiczak MH. Medical Biochemistry. Mosby. London, UK, 1999.
El metabolismo global de los aminoácidos está descrito con una gran sencillez y claridad.

Broody T. Nutritional Biochemistry, 2nd ed. Cambridge University Press. Cambridge, UK, 2003.
Dedicado al estudio de los nutrientes en general, son destacables la actualidad y la claridad en el tema del metabolismo de los aminoácidos.

Garrow JS, James WPT, Ralph A. Human Nutrition and Dietetics, 10th ed. Churchill-Livingstone, 2000.
Se trata de un libro clásico en nutrición, claro y ordenado. El tema del metabolismo de los aminoácidos está tratado con dichas características.

Gibney M, MacDonald I, Roche HM. Nutrition & Metabolism. Blackwell Publishing Company. London, UK, 2003.
Libro muy actualizado que enfoca la nutrición y el metabolismo desde un punto de vista integrado. Está especialmente diseñado para el aprendizaje de la nutrición.

Meisenberg G, Simmons WH. Principles of Medical Biochemistry. Mosby. St Louis, 1998.
Describe con gran claridad y concisión las vías metabólicas de los aminoácidos.

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Illustrated Biochemistry, 26th ed. Lange Medical Books/ McGraw-Hill. New York, USA, 2003.
Este libro es un texto de Bioquímica especialmente útil para todo lo referente a la Bioquímica humana y la Medicina. El Capítulo sobre metabolismo de aminoácidos es claro y actualizado.

Sanders T, Emery P. Molecular Basis of Human Nutrition. Taylor & Francis. London, UK, 2003.

Se tratan los aspectos bioquímicos básicos de la nutrición de manera clara, ordenada y actualizada.

Shils ME, Olson JA, Shike M. Modern Nutrition in Health and Disease, 8th ed. Lea & Febiger. Williams & Wilkins, 1994.
Es un tratado clásico de nutrición, muy completo, que incluye los aspectos bioquímicos básicos.

Slaway JG. Una ojeada al metabolismo, 2ª ed. Ediciones Omega. Barcelona, 2002.
Como indica su título, se trata de un texto dedicado específicamente al estudio de las vías metabólicas, con sus numerosas interconexiones y sus implicacionens fisiológicas.

Stipanuk MH. Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition. W.B. Saunders Company. Philadelphia, New York, USA, 2000.
Tratado multiautor que estudia la estructura y propiedades de los nutrientes, su digestión, absorción y metabolismo y los aspectos concretos entre dieta y enfermedad. El metabolismo de los aminoácidos está descrito con gran detalle.

12. Enlaces web

- www.indstate.edu/thcme/mwking/ amino-acid-metabolism.html
- www.med.unibs.it/~marchesi/aametab.html
- www.bmb.leeds.ac.uk/teaching/icu3/metabol/amino.htm
- biotech.icmb.utexas.edu/pages/science/metabolism.html
- dwb.unl.edu/Teacher/NSF/C11/C11Links/web.indstate.edu/thcme/mwking/amino-acid-metabolism.html
- www.albany.edu/faculty/cs812/bio366/ L09_AminoAcidMetab2.pdf
- www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01150.html
- www.oup.co.uk/doc/college/ch16-18.doc

1.15. Aminoácidos semiesenciales y derivados de aminoácidos de interés nutricional

Ángel Gil Hernández ■ Fermín Sánchez de Medina Contreras

Capítulo 1.15.

Aminoácidos semiesenciales y derivados de aminoácidos de interés nutricional

1. Introducción

2. Aminoácidos condicionalmente esenciales

2.1. Arginina
- 2.1.1. Metabolismo
- 2.1.2. Utilización clínica
  - 2.1.2.1. Arginina y función endotelial
  - 2.1.2.2. Arginina y reproducción
  - 2.1.2.3. Arginina y desarrollo neonatal
  - 2.1.2.4. Arginina y sistema inmunológico
  - 2.1.2.5. Arginina y función gastrointestinal
  - 2.1.2.6. Arginina y enfermedad renal
  - 2.1.2.7. Arginina y curación de heridas
  - 2.1.2.8. Arginina y tumorogénesis

2.2. Cisteína

2.3. Glicina

2.4. Glutamina
- 2.4.1. Funciones y metabolismo
- 2.4.2. Utilización clínica
  - 2.4.2.1. Glutamina e intestino
  - 2.4.2.2. Glutamina en la sepsis, la infección, el trauma y otros estados catabólicos
  - 2.4.2.3. Glutamina y cáncer

2.5. Prolina

2.6. Tirosina

3. Derivados de aminoácidos de interés nutricional

3.1. Carnitina
- 3.1.1. Metabolismo
- 3.1.2. Utilización clínica

3.2. Colina
- 3.2.1. Esencialidad
- 3.2.2. Funciones dietéticas e ingesta
- 3.2.3. Absorción, metabolismo y excreción
  - 3.2.3.1. Absorción
  - 3.2.3.2. Biosíntesis de la fosfatidilcolina
  - 3.2.3.3. Otras vías metabólicas

3.2.4. Utilización clínica
3.2.4.1. Colina en la gestación y la lactancia
3.2.4.2. Colina y enfermedad hepática
3.2.4.3. Colina y enfermedad cardiovascular
3.2.4.4. Colina y demencia
3.2.5. Recomendaciones internacionales de ingestas adecuadas
3.3. Poliaminas
3.3.1. Metabolismo
3.3.2. Utilización clínica
3.4. Taurina
3.4.1. Metabolismo
3.4.2. Utilización clínica
3.4.2.1. Taurina y desarrollo del lactante
3.4.2.2. Taurina y enfermedad cardiaca
3.4.2.3. Taurina e inmunidad
3.4.2.4. Taurina y diabetes

4. Resumen

5. Bibliografía

6. Enlaces web

Objetivos

- Entender el significado del concepto de nutrientes condicionalmente esenciales, referido especialmente a aminoácidos y sus derivados.
- Descubrir las condiciones fisiológicas y patológicas en las que se necesitan estos compuestos en cantidades superiores a las posibilidades biosintéticas.
- Conocer las vías metabólicas de los aminoácidos condicionalmente esenciales que justifican su interés fisiológico.
- Relacionar dichas vías metabólicas con las funciones biológicas correspondientes.
- Relacionar las funciones biológicas de los aminoácidos semiesenciales y de sus derivados de interés nutricional con las aplicaciones clínicas derivadas.
- Identificar los aminoácidos condicionalmente esenciales y sus derivados para los recién nacidos, especialmente para los prematuros.
- Mostrar los aminoácidos condicionalmente esenciales y los derivados metabólicos que ejercen funciones inmunomoduladoras.
- Distinguir los aminoácidos y sus derivados condicionalmente esenciales en condiciones catabólicas, cáncer, enfermedad cardiovascular y demás circunstancias patológicas.

1. Introducción

La concepción clásica de la clasificación nutricional de los aminoácidos divide a éstos en dos categorías: indispensables o esenciales y dispensables o no esenciales. Los nueve aminoácidos indispensables (histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina) constituyen un grupo cuyo esqueleto carbonado no puede ser sintetizado a partir de moléculas simples por los humanos y, por tanto, deben proveerse con la dieta. Aunque la clasificación nutricional clásica de los aminoácidos se ha mantenido, la definición de aminoácido dispensable ha sido abandonada conforme se ha ido disponiendo de más información sobre el metabolismo intermediario y las características nutricionales de estos compuestos.

En 1987, Laidlaw y Kopple dividieron los aminoácidos dispensables en dos clases: dispensables verdaderos y condicionalmente indispensables o condicionalmente esenciales. Sólo cinco aminoácidos son considerados como realmente dispensables (alanina, ácido aspártico, asparragina, ácido glutámico y serina), ya que pueden ser sintetizados a partir de otros aminoácidos o de metabolitos nitrogenados en cantidades suficientes en cualquier circunstancia fisiológica o patológica. Otros seis aminoácidos (arginina, cisteína, glicina, glutamina, prolina y tirosina) se clasifican como condicionalmente indispensables o semiesenciales, puesto que pueden sintetizarse a partir de otros aminoácidos, pero su formación está limitada en determinadas circunstancias fisiológicas o fisiopatológicas. No obstante, en el recién nacido se ha sugerido que solamente la alanina, el aspartato, el glutamato y la serina son verdaderamente dispensables.

La distinción entre aminoácido esencial y condicionalmente esencial o semiesencial no deja de ser confusa. Así, todos los aminoácidos que requieren para su síntesis endógena cadenas carbonadas preformadas y grupos sustitutivos derivados de otros aminoácidos pueden incluirse en la categoría de aminoácidos semiesenciales. La glicina, la serina y la cisteína son, en este sentido, aminoácidos interdependientes, y una disminución en el suministro de uno de ellos puede limitar la capacidad de síntesis de los otros. De hecho, actualmente se conoce que existe un requerimiento de nitrógeno como grupo α-amino en forma de glutamato, alanina y aspartato.

Desde un punto de vista práctico, las proteínas de la dieta deben suministrar cantidades adecuadas de aminoácidos indispensables, de aminoácidos dispensables y de aminoácidos condicionalmente indispensables, de manera que se satisfagan tanto las necesidades de nitrógeno total como las de los aminoácidos específicos.

El término "condicionalmente esencial", aplicado inicialmente a los aminoácidos, se utiliza de forma generalizada para otros nutrientes. Así, un nutriente condicionalmente esencial es un compuesto producido usualmente en cantidades adecuadas por síntesis endógena, pero que se requiere de forma exógena bajo determinadas circunstancias. Algunos derivados de aminoácidos, como la carnitina,

Tabla 1. AMINOÁCIDOS INDISPENSABLES, DISPENSABLES Y CONDICIONALMENTE INDISPENSABLES EN LA DIETA HUMANA

Indispensable	Dispensable	Condicionalmente indispensable
Histidina	Alanina	Arginina
Isoleucina	Ácido aspártico	Cisteína
Leucina	Asparragina	Glutamina
Lisina	Ácido glutámico	Glicina
Metionina	Serina	Prolina
Fenilalanina		Tirosina
Treonina		
Triptófano		
Valina		

Tabla 2. COMPUESTOS PRECURSORES DE LOS AMINOÁCIDOS SEMIESENCIALES EN EL SER HUMANO

Precursor/es de los aminoácidos semiesenciales	Aminoácidos semiesenciales
Glutamina/glutamato, aspartato	Arginina
Aspartato, metionina	Cisteína
Glutamato, amonio	Glutamina
Serina, colina	Glicina
Glutamato	Prolina
Fenilalanina	Tirosina

la colina y las poliaminas, tienen también el carácter de compuestos condicionalmente esenciales. Asimismo, los nucleótidos de la dieta se consideran compuestos semiesenciales, en tanto en cuanto algunos tejidos de rápido crecimiento, como el intestino, la médula ósea y los linfocitos, utilizan preferentemente bases púricas y pirimidínicas preformadas para la síntesis de ácidos nucleicos. Las funciones biológicas de los nucleótidos de la dieta se tratan en el Capítulo 1.16. Por otra parte, el inositol es un derivado glucídico que puede tener una función condicionalmente esencial para el recién nacido prematuro. Por lo que se refiere a los compuestos lipídicos, los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, derivados de los ácidos grasos esenciales, pueden ser también nutrientes condicionalmente esenciales para los recién nacidos, especialmente para los recién nacidos pretérmino. Las funciones biológicas y nutricionales de los ácidos grasos esenciales y de sus derivados de cadena larga se estudian en el Capítulo 1.13. El presente Capítulo se limita al estudio de los aminoácidos semiesenciales y de algunos derivados de aminoácidos de interés nutricional.

2. Aminoácidos condicionalmente esenciales

La **Tabla 1** muestra los aminoácidos considerados como indispensables, dispensables y condicionalmente indispensables; y la **Tabla 2**, los precursores de estos últimos.

2.1. Arginina

La discusión sobre la esencialidad de la arginina es tan antigua como el concepto de aminoácido esencial. Hace ya mucho tiempo que se admitió que los requerimientos de este aminoácido pueden alterar-

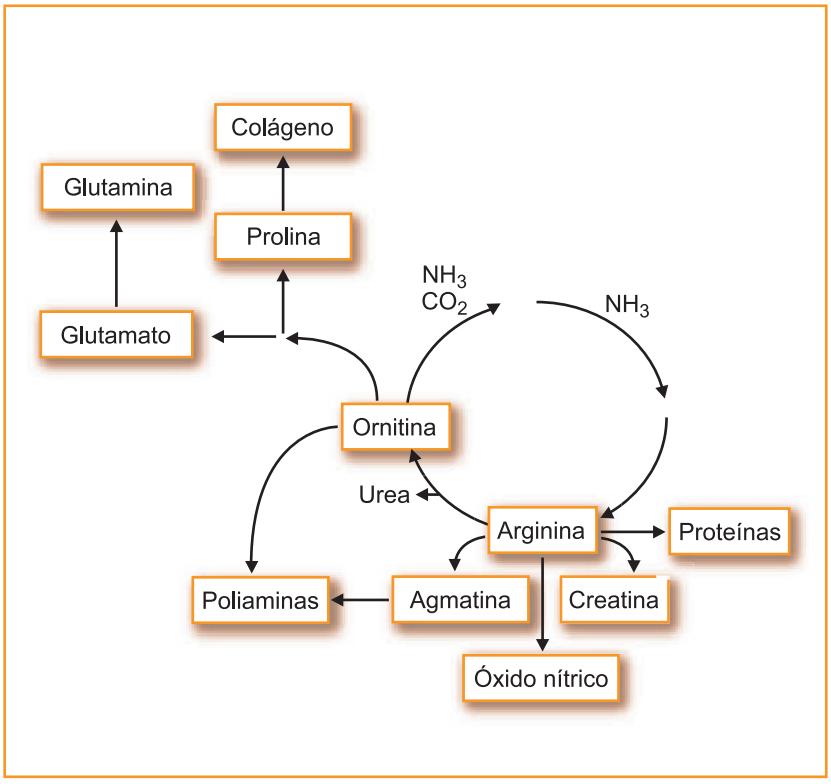


Figura 1. *Principales vías metabólicas de la arginina.*

se en ciertas enfermedades. Así, en algunos defectos congénitos de enzimas del ciclo de la urea, la arginina es un aminoácido esencial. Por su posición en el ciclo de la urea, es evidente que la arginina puede sintetizarse fácilmente a nivel corporal. A pesar de ello, una dieta libre de arginina origina reducción del crecimiento y produce hepatotoxicidad en varios modelos animales. Por otra parte, las soluciones de nutrición parenteral exentas de arginina causan hiperamoniemia, acidosis metabólica y coma en la especie humana. Además, la síntesis de arginina está disminuida en los recién nacidos, especialmente en los prematuros, debido a que varias enzimas del ciclo de la urea maduran alrededor del nacimiento.

La ingesta media de arginina en el adulto es de 4,2 g/día, aunque puede llegar hasta 10,1 g/día.

2.1.1. Metabolismo

Las vías metabólicas de la arginina se esquematizan en la **Figura 1**. La arginina se puede sintetizar en nuestro organismo, pero este proceso se realiza fundamentalmente en el hígado, formando parte del ciclo de la urea. Por eso, una gran parte de la arginina que se origina es degradada a ornitina. La arginina necesaria para otras funciones debería "escapar" del ciclo, lo que supone una importante limitación en condiciones de requerimientos acentuados. No obstante, como se ha considerado ya en el apartado 5.4 del Capítulo 1.14, la arginina puede sintetizarse también en otros territorios del organismo. Concretamente, en la mucosa intestinal se forma citrulina a partir de glutamato, y esta citrulina puede convertirse en el riñón en arginina por una ruta análoga a la que funciona para la ureogénesis hepática **(Figura 2)**.

Los destinos metabólicos de la arginina son múltiples:

a) Síntesis de péptidos y proteínas. Como se acaba de indicar, pueden existir situaciones en que la demanda de arginina supere su disponibilidad. Esto ocurre, por ejemplo, en fases de crecimiento acelerado (recién nacidos) o cuando debe haber una intensa proliferación celular (situaciones de estrés metabólico).

b) Funcionamiento del ciclo de la urea. La arginina no es solamente un intermediario en el proceso de la ureogénesis, sino que tiene también una acción reguladora positiva sobre esta vía metabólica (*ver Capítulo 1.14, apartado 3.1*). La falta de arginina, por tanto, puede afectar negativamente la producción de urea.

c) Formación de óxido nítrico. La arginina es el sustrato a partir del cual se forma el óxido nítrico (NO), gracias a la acción de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS). El NO cumple funciones fisiológicas muy importantes, entre las que destaca su acción vasodilatadora (*ver más adelante*).

d) Formación de creatina. Como se ha comentado en otras ocasiones (*ver Capítulo 1.2, apartado 3.1.4, y Capítulo 1.14, apartado 5.4*), la creatina es una molécula que sirve para almacenar energía y constituye una parte cuantitativamente importante del consumo metabólico de arginina. Las etapas enzimáticas de la síntesis de creatina se describen en la **Figura 3**.

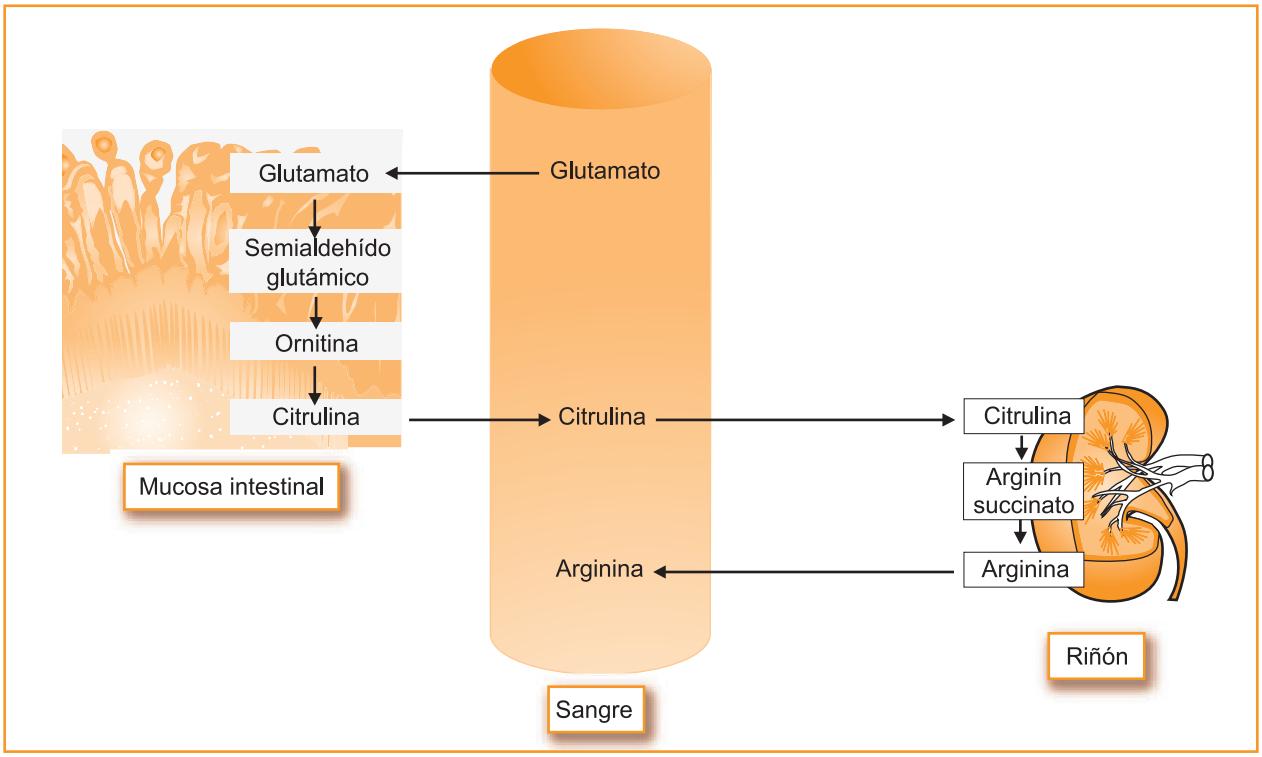


Figura 2. *Relaciones intertisulares para la síntesis de arginina a partir de glutamato.*

e) Otros procesos biosintéticos. A partir de arginina se forma ornitina dentro del ciclo de la urea. Además de participar en este ciclo, la ornitina puede seguir otras vías metabólicas. Una de ellas lleva a la prolina, aminoácido fundamental para la síntesis de colágeno, que puede explicar la eficacia de la arginina para estimular la curación de heridas. Otra de ellas conduce a glutamato, en reacción inversa a su biosíntesis (*ver Capítulo 1.14, apartado 5.4*). Por último, la ornitina se utiliza en la formación de poliaminas, que son compuestos que activan la proliferación celular (*ver el apartado 5.3 del Capítulo 1.14 y el apartado 3.3 de este Capítulo*). Otro derivado metabólico de la arginina es la agmatina; este compuesto puede contribuir también a la síntesis de poliaminas y tiene interesantes propiedades reguladoras (*ver apartados 2.1.2.1 y 3.3 de este Capítulo*).

2.1.2. Utilización clínica

Además de las funciones específicas bien conocidas relacionadas directamente con su metabolismo, la arginina parece desempeñar otras funciones fisiológicas importantes. Así, este aminoácido es capaz de estimular la secreción de hormonas diversas, como insulina, glucagón, catecolaminas, prolactina y hormona del crecimiento, lo que podría explicar, al menos en parte, el efecto beneficioso de la complementación con arginina de la dieta de los pacientes en situaciones catabólicas. El mecanismo de esta activación es todavía mal conocido.

Por otra parte, la arginina desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la respuesta inmune. La complementación con arginina incrementa el peso del timo y el número de sus linfocitos, y estimula las reacciones de hipersensibilidad retardada. Además, aumenta la capacidad proliferativa de los linfocitos frente a mitógenos y la actividad de las células ***N**atural **K**iller* (NK).

De acuerdo con las funciones descritas, la utilización clínica de la arginina se justifica en situaciones de traumatismo digestivo, cirugía mayor, ulceraciones, isquemia, traslocación bacteriana, etc.

2.1.2.1. Arginina y función endotelial

Desde la década de los ochenta se han realizado diversos trabajos epidemiológicos que sugerían una función protectora de la arginina sobre la

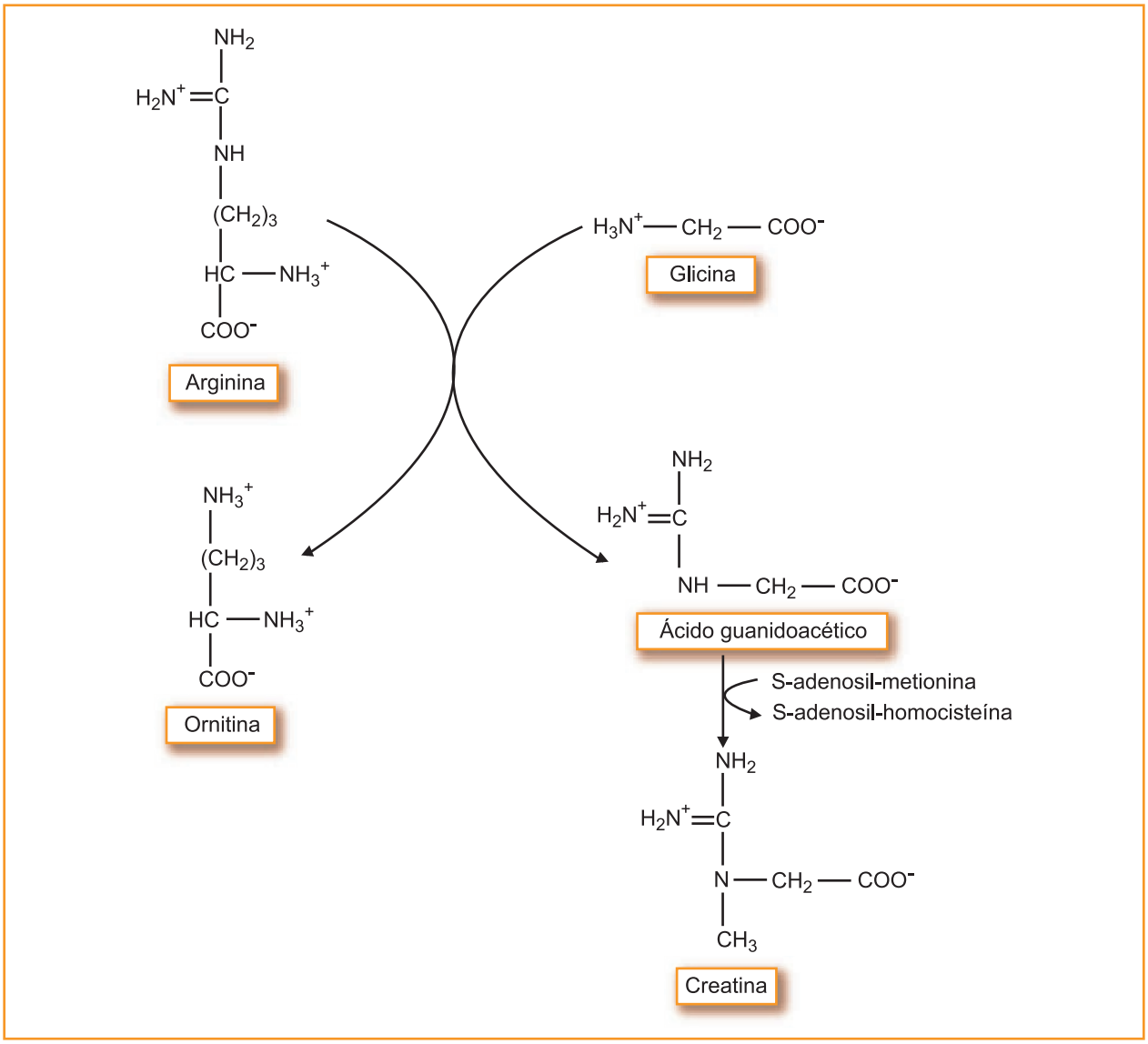


Figura 3. *Síntesis de creatina.*

salud cardiovascular. El mecanismo de esta protección no se pudo explicar hasta que se descubrió la naturaleza química del conocido "factor relajante derivado del endotelio" y se identificó con el NO. Este compuesto deriva enzimáticamente de la arginina y tiene numerosas capacidades funcionales. La formación de NO a partir de arginina está catalizada por una enzima denominada NOS y requiere la aportación de oxígeno molecular y la colaboración de numerosas moléculas coenzimáticas **(Figura 4)**.

Como se acaba de mencionar, las funciones del NO son muy diversas, dependiendo del tejido en el que se produzca y de las circunstancias fisiológicas o patológicas. De hecho, existen tres isoformas de la óxido nítrico sintasa. Las denominadas óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS o NOS-I) y óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS o NOS-III) son enzimas constitutivas, dependen del sistema calcio-calmodulina y se pueden considerar claramente "protectoras" o "fisiológicas". En efecto, el NO está implicado en la actividad neuronal y en la función endotelial. La producción de NO por las células endoteliales conlleva efectos vasodilatadores y antiateroscleróticos, siendo además un antiagregante plaquetario. Ambas enzimas, la nNOS y la eNOS, producen NO

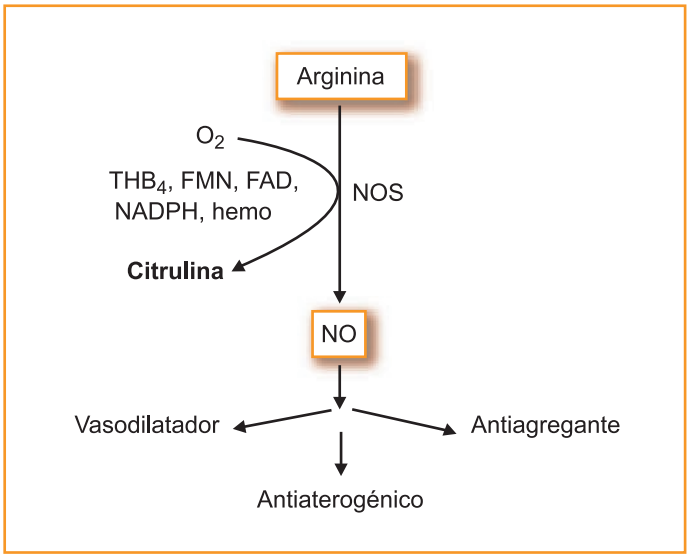


Figura 4. *Síntesis de óxido nítrico a partir de arginina. NO: óxido nítrico; NOS: óxido nítrico sintasa; THB: tetrahidrobiopterina; FMN: flavín mononucleótido; FAD: flavín adenín nucleótido; NADPH: nicotín adenín dinucleótido fosfato reducido.*

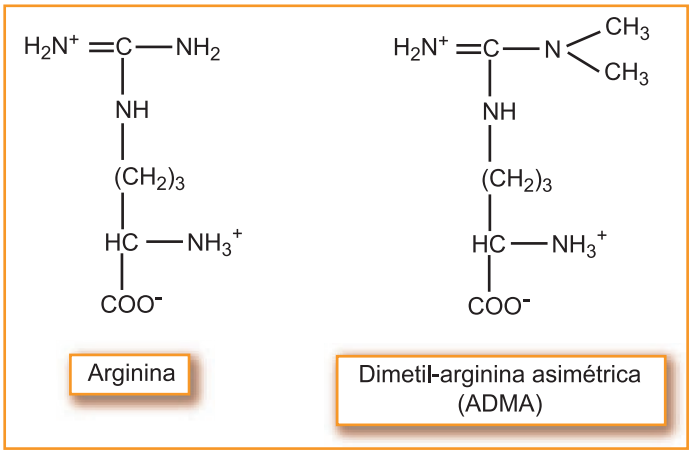


Figura 5. *Estructura química de la arginina y de la dimetil-arginina asimétrica.*

en pequeña cantidad, pero de manera continua. En cambio, la denominada óxido nítrico sintasa inducible (iNOS o NOS-II) se forma en muchos tejidos (macrófagos, hepatocitos, células de músculo liso de la pared vascular, etc.), no depende del calcio y se origina en cantidades importantes cuando se induce por las citokinas inflamatorias. En estas condiciones, por ejemplo, el NO producido por los macrófagos se utiliza para destruir a las bacterias fagocitadas.

Es interesante señalar que la agmatina, un compuesto derivado de la arginina por descarboxilación (*ver apartado 3.3 de este Capítulo*), parece regular la producción de NO a través de su interacción con las distintas isoformas de la óxido nítrico sintasa. La propia agmatina activa las enzimas constitutivas (nNOS y eNOS) porque favorece la liberación de iones calcio. Por otra parte, un derivado oxidado de la agmatina inhibe la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS).

La acción vasoprotectora de la arginina podría explicarse, en consecuencia, por su capacidad de aumentar la producción de NO en el endotelio vascular. Sin embargo, el estudio detallado de esta reacción enzimática indica que la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) tiene una constante de Michaelis-Menten (K_m) muy baja (de orden micromolar) y, por tanto, una gran afinidad por su sustrato, la arginina; y, por otra parte, que las concentraciones endoteliales de arginina son muy altas (de orden milimolar). Así pues, no debería haber ningún problema para el funcionamiento de la enzima como consecuencia de variaciones en las concentraciones de sustrato debidas a su aporte nutricional. Esto es lo que se llamó "paradoja de la arginina". De hecho, los estudios experimentales no mostraron efectos vasodilatadores directos de la arginina ni en animales ni en humanos. No obstante, sí que se encontraron estos efectos vasodilatadores en condiciones de hipercolesterolemia.

Entre las posibles explicaciones para esta **paradoja de la arginina** destaca la existencia de un inhibidor competitivo endógeno de la eNOS, descubierto en 1992 en enfermos con insuficiencia renal, denominado dimetil-arginina asimétrica (ADMA) (los dos metilos están unidos a un solo nitrógeno del grupo guanido) **(Figura 5)**, y que está aumentado en estas condiciones y en otras situaciones patológicas, como la hipercolesterolemia, la aterosclerosis y la hipertensión arterial. El incremento en las concentraciones de ADMA supone un importante efecto inhibidor sobre la enzima, que puede ser atenuado si asciende la concentración de sustrato disponible. En efecto, algunos estudios de intervención indican que la complementación con arginina mejora la función endotelial en pacientes con enfermedad coronaria. Además, el tratamiento a lar-

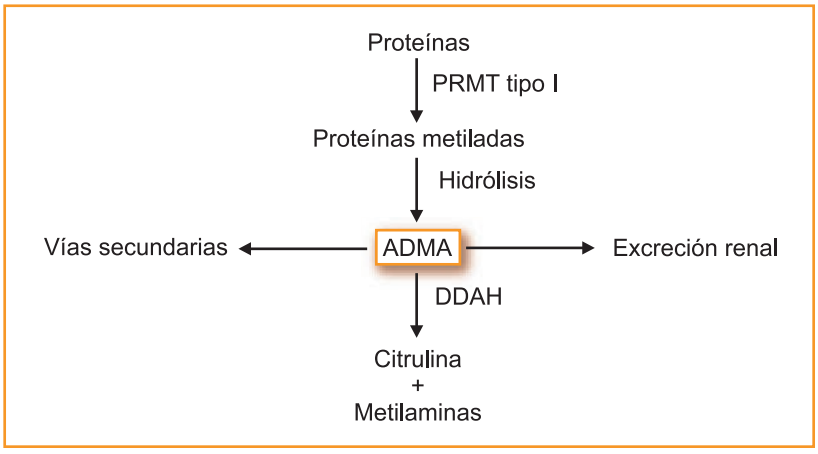


Figura 6. *Metabolismo de la dimetil-arginina asimétrica (ADMA).*

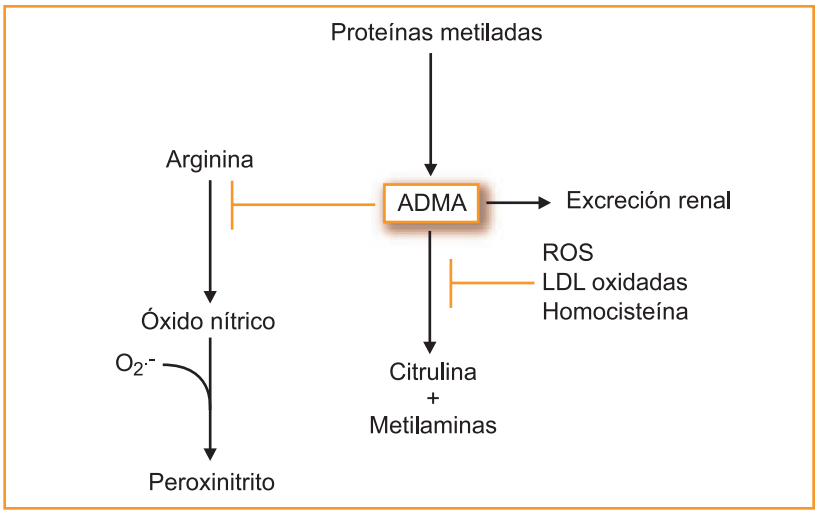


Figura 7. *Regulación de las concentraciones de óxido nítrico (NO). ADMA: dimetil-arginina asimétrica; ROS: especies reactivas de oxígeno; LDL: lipoproteínas de baja densidad.*

go plazo con arginina disminuye los síntomas de la enfermedad vascular en pacientes con aterosclerosis periférica y coronaria.

a) Metabolismo de la dimetil-arginina asimétrica. La ADMA procede de la hidrólisis de proteínas nucleares previamente metiladas, implicadas en el procesado del RNA (*ver Capítulo 1.7*). Las enzimas responsables de estas metilaciones se denominan proteína-arginina metil transferasas (PRMT: ***PR****otein Arginine* ***M****ethyl* ***T****ransferases*). La PRMT tipo I es responsable de la formación de restos de ADMA, mientras que la PRMT tipo II produce una metilación simétrica de los restos de arginina, los cuales originarán posteriormente una dimetil-arginina simétrica (por metilación en restos nitrogenados distintos en vez de la dimetilación en un solo grupo nitrogenado que caracteriza a la ADMA) que no interfiere con la eNOS.

Una vez hidrolizadas las proteínas que contienen los restos de ADMA, este metabolito puede tener varios destinos **(Figura 6)**:

- Excreción renal.
- Hidrólisis hasta citrulina y metilaminas. La reacción de hidrólisis está catalizada por la enzima DDAH (dimetilarginina-dimetil-amino-hidrolasa).
- Otras vías metabólicas secundarias (reacciones de transaminación en el riñón o reacciones de acetilación en el hígado).

b) Alteraciones en la concentración endotelial de óxido nítrico. Las concentraciones endoteliales de NO pueden descender por dos mecanismos principales: la inhibición de la óxido nítrico sintasa por ADMA y la reacción del NO con el radical superóxido **(Figura 7)**.

La causa mejor establecida del incremento de las concentraciones plasmáticas de ADMA es la insuficiencia renal. Además, este metabolito puede aumentar por la inhibición de la enzima responsable de su catabolismo: la DDAH. Esta inhibición la pueden originar en general las especies reactivas de oxígeno y, especialmente, las LDL oxidadas. También se ha demostrado el efecto inhibidor de la homocisteína.

En el proceso aterosclerótico existe una producción excesiva del radical superóxido. En este caso, esta molécula reacciona con el NO originando otra especie muy reactiva, denominada peroxinitrito. Esto supone, lógicamente, la disminución celular del NO.

En resumen, la mayoría de los estudios realizados hasta la fecha sugieren que la complementación con arginina favorece la función endotelial. La protección cardiovascular a largo plazo no está tan clara y se necesitan estudios posteriores. En

cualquier caso, parece claro que la determinación de la ADMA plasmática es un buen marcador biológico de riesgo aterogénico, especialmente en enfermos con problemas renales.

2.1.2.2. Arginina y reproducción

Una nutrición adecuada es crítica para mantener la fertilidad, así como para el desarrollo de la placenta y del feto. Hace más de 50 años se demostró que una dieta deficiente en arginina provoca un descenso del 90% en el número de espermatozoides y eleva la cantidad de espermatozoides inmóviles. Posteriormente, en varios estudios se ha observado que la administración de 0,5 a 5 g/día de arginina durante 6-8 semanas a hombres infértiles incrementa la espermatogénesis y la fertilidad. Este efecto está relacionado con el papel esencial del NO en la erección y en la regulación de la liberación por el hipotálamo de la hormona liberadora de la hormona luteinizante, así como con la síntesis aumentada de poliaminas durante la espermatogénesis.

La arginina es inusualmente abundante en el fluido alantoico durante la primera etapa de la gestación (4-5 mmol/l), lo que habla en favor de la función de este aminoácido en la nutrición y el metabolismo de la unidad fetoplacentaria. Las poliaminas y el NO son esenciales para la implantación y el desarrollo del embrión, así como para la angiogénesis de la placenta, lo que permite el suministro adecuado de nutrientes al feto. La deficiencia de arginina causa crecimiento intrauterino retardado y aumento de la mortalidad perinatal en animales. Además, la complementación con arginina (0,2-2% en el agua de la bebida) previene la hipoxia inducida por el retraso del crecimiento intrauterino en la rata.

A pesar de los estudios realizados en animales, se sabe muy poco de los mecanismos para mantener la homeostasis de la arginina en el feto. No obstante, investigaciones recientes indican que, durante la última etapa de la gestación, la captación uterina de arginina no es suficiente para satisfacer los requerimientos fetales, por lo que probablemente la síntesis fetal endógena a partir de glutamina y citrulina desempeñe un papel fundamental durante el periodo perinatal. Así, un bloqueo en el suministro de glutamina puede provocar una deficiencia en la síntesis endógena de arginina y conllevar retraso del crecimiento intrauterino. De cualquier forma, se ha descrito que la actividad de la arginín-succinato liasa es baja tanto en la prematuridad como en situaciones de desnutrición en los lactantes, lo que conduce a niveles séricos disminuidos de arginina y, por tanto, a la detención del crecimiento.

La preeclampsia es una de las causas fundamentales de retraso del crecimiento intrauterino, de prematuridad y de comorbilidad asociada; en esta situación existen evidencias de disfunción endotelial. La infusión de 30 g de arginina a mujeres con pre-eclampsia aumenta la producción sistémica de NO y disminuye la presión arterial. Por otra parte, se sabe que el NO inhibe la contractilidad uterina durante la gestación. La infusión de 30 g de arginina durante 30 minutos a mujeres con contracciones prematuras reduce espontáneamente la contractilidad. Todo ello sugiere que la administración de arginina puede ser útil en la prevención de la prematuridad.

2.1.2.3. Arginina y desarrollo neonatal

Los requerimientos de arginina por todos los mamíferos jóvenes son muy elevados, debido a la abundancia relativa de este aminoácido en las proteínas y a sus funciones en el desarrollo. Paradójicamente, las soluciones utilizadas en nutrición parenteral (NP) en la infancia son deficientes en arginina o no contienen glutamina, un aminoácido condicionalmente esencial para el prematuro y precursor mayoritario en la síntesis de arginina. Así, se ha demostrado la existencia de hiperamoniemia en más del 50% de los niños pretérmino que reciben NP exclusiva con soluciones que no incluyen glutamina, ornitina o citrulina, y el tratamiento efectivo por administración intravenosa de arginina. La hiperamoniemia es paralela a la hipoargininemia (< 32 µmol/l, un tercio de la concentración encontrada en los niños alimentados al pecho). Además, en estos niños, los bajos niveles de arginina se asocian a una mayor incidencia y gravedad del síndrome de distrés respiratorio, la enfermedad pulmonar más frecuente en los neonatos. Asimismo, en los recién nacidos prematuros alimentados por vía enteral con 2 g/kg/día de proteína (una cantidad suficiente para los lactantes normales) se produce hipoargininemia, lo que indica que el suministro dietético de este aminoácido en cantidad suficiente es fundamental para el desarrollo del niño prematuro.

2.1.2.4. Arginina y sistema inmunológico

En la actualidad existen varias fórmulas para uso en nutrición enteral clínica cuyo contenido en arginina es superior hasta en cinco veces al de una dieta normal (*ver Capítulo 4.3*). La razón de ello se basa en un número elevado de estudios que indican que la arginina es fundamental en el mantenimiento del sistema inmunológico y que eso contribuye a disminuir las complicaciones infecciosas y las estancias hospitalarias, así como la mortalidad en los enfermos críticos. No obstante, muchos de los estudios llevados a cabo tanto en animales como en humanos ofrecen resultados contradictorios. Esto se debe principalmente a las diferentes cantidades y vías de administración utilizadas, a las dietas usadas como control, cuyo contenido en arginina varía mucho (0,4-2%), y a las distintas especies y cepas de animales.

La arginina parece necesaria para mantener la normalidad del sistema inmunológico. Así, los linfocitos cultivados en medios con concentraciones bajas de arginina muestran una menor proliferación, y ésta alcanza un máximo con concentraciones fisiológicas del aminoácido.

La administración de arginina durante el periodo de resucitación después de un trauma disminuye la producción de interleukina-6 y aumenta la de interleukina-2 por los esplenocitos en animales. Asimismo, cuando se suministra arginina por vía oral, antes de producir el trauma, la supervivencia de los animales mejora significativamente.

En varios estudios llevados a cabo con células aisladas, así como en humanos que han recibido un suplemento de arginina, se ha demostrado que incrementa la proliferación de los linfocitos frente a mitógenos. Sin embargo, se desconoce el mecanismo por el cual este aminoácido estimula la proliferación linfocitaria, aunque parece que la arginina aumenta la expresión génica de la cadena ξ del receptor CD3 de las células T, el principal elemento en la transducción de señales del receptor (*ver Capítulo 1.35*).

También se han descrito cambios en la función de los macrófagos mediados por la arginina. Así, la producción de anión superóxido, la fagocitosis, la síntesis proteica y la actividad tumoricida de los macrófagos aumentan en un medio que contiene concentraciones plasmáticas fisiológicas de arginina, mientras que se inhiben con concentraciones de tipo farmacológico. No obstante, se necesitan estudios sistemáticos para determinar la ingesta de arginina mínima que permite mantener las funciones inmunitarias, así como los mecanismos de acción implicados.

2.1.2.5. Arginina y función gastrointestinal

Tanto la producción excesiva como la escasa formación de NO son nocivas para el intestino. Así, un exceso de NO altera la barrera intestinal, y el bloqueo de la producción de NO con algunos análogos de arginina potencia el daño intestinal en varios modelos animales de endotoxemia. La depleción de arginina y la reducción en la síntesis de NO, de poliaminas y de colágeno pueden predisponer a una recuperación disminuida del intestino dañado por varias causas, como la enterocolitis necrótica, el fallo orgánico multisistémico y la endotoxemia.

Varios estudios han puesto de manifiesto los efectos beneficiosos de la arginina sobre la función gastrointestinal en animales con enteritis por radiación y con enterocolitis necrótica. En niños prematuros, la reducción en los niveles plasmáticos de arginina se ha relacionado con una mayor incidencia de esta última patología, aunque se desconoce si el aumento de la concentración de arginina en las soluciones de nutrición parenteral tendrá un resultado positivo en la disminución de la enterocolitis necrótica.

El daño hepático también se modifica por el NO. Como la síntesis hepática neta de arginina es muy pequeña, la fuente predominante para la producción de NO en el hígado proviene de la arginina exógena. Así, el daño hepático originado por la isquemia y reperfusión se atenúa con la infusión de arginina. También se ha observado una traslocación bacteriana disminuida en animales que ingieren un suplemento de arginina, lo que sugiere un efecto reparador de este aminoácido en las ulceraciones de la mucosa. El efecto barrera de la arginina puede incluir la restitución de la mucosa por una mayor migración epitelial y una reducción de la permeabilidad transepitelial inducida por el NO. En apoyo de esta hipótesis, varios estudios han demostrado que una dieta complementada con arginina disminuye el tamaño y el número de úlceras provocadas por antiinflamatorios no esteroideos. No obstante, se desconoce hasta qué punto en varias patologías del intestino en los humanos existe un descenso de la arginina en la mucosa. Además, en algunas patologías, como la enfermedad inflamatoria intestinal, la producción de NO por la iNOS es excesiva y no se sabe si la administración de arginina podría agravar la enfermedad.

2.1.2.6. Arginina y enfermedad renal

El NO, las poliaminas y la prolina desempeñan funciones importantes en la función renal. En concentraciones fisiológicas, el NO regula la hemodinámica glomerular y medular, la liberación de renina y el volumen de fluido extracelular. Sin embargo, la producción excesiva de NO puede provocar la formación del anión peroxinitrito, la nitración de los restos de tirosina en las proteínas y la producción de radicales hidroxilo, y propiciar la patogénesis de varias enfermedades renales comunes, como la glomerulonefritis autoinmune y el fallo renal postisquémico. En estos casos, el exceso de arginina en la dieta puede resultar dañino. No obstante, la síntesis disminuida de NO por la eNOS puede contribuir a la patogénesis de la hipertensión y al daño glomerular. Esto explicaría por qué la mayor parte de los estudios realizados con suplementos de arginina indican que la complementación de la dieta con este aminoácido es útil en la prevención o disminución de la progresión de varias enfermedades renales caracterizadas por hipertensión intraglomerular e hipertensión sistémica.

2.1.2.7. Arginina y curación de heridas

La curación de las heridas es un aspecto importante en los pacientes con lesiones corporales, ya que minimiza la morbilidad y la mortalidad. El NO producido por la iNOS parece ser un elemento esencial en este proceso. Además, la complementación de la dieta con arginina, tanto en animales como en humanos, acelera la cicatrización, incrementando el contenido de hidroxiprolina y la fuerza tensil en las heridas. Asimismo, en pacientes pediátricos quemados se ha demostrado que existe una marcada degradación de arginina sin aumento concomitante de la síntesis, por lo que parece que la administración exógena de este aminoácido es obligatoria para mantener un balance nitrogenado positivo.

2.1.2.8. Arginina y tumorogénesis

El NO inhibe la tumorogénesis *in vivo*, mientras que las poliaminas la estimulan. Sin embargo, la supresión o estimulación de la tumorogénesis por la arginina depende de las actividades relativas de las vías de la arginasa y de la NOS, cuya expresión varía con los estados de la carcinogénesis. No obstante, la mayoría de los estudios realizados *in vivo* indican que la complementación dietética con arginina desde la inducción del tumor protege al huésped y eleva la supervivencia a través de la citotoxicidad mediada por NO. Así, se ha observado que, en modelos experimentales, la administración de arginina disminuye la hiperproliferación de las células de las criptas en el cáncer colorrectal.

2.2. Cisteína

La cisteína es un aminoácido dispensable para el adulto humano, que en circunstancias fisiológicas lo puede sintetizar a partir de metionina y serina, como se ha detallado en el Capítulo 1.14. No obstante, este aminoácido está presente en la dieta habitual y su ingesta media es de 1 g/kg/día. La cisteína desempeña un papel fundamental, no sólo como componente de las proteínas, sino también como un elemento esencial en la síntesis de glutatión y de taurina.

Para los recién nacidos, especialmente para los prematuros, la cisteína es un aminoácido condicionalmente esencial, ya que la proporción de síntesis *de novo* no es suficiente para cubrir los requerimientos corporales. Ello se debe a la escasa actividad de la cistationasa hepática. Así, los lactantes alimentados con leches con predominio de caseínas, ricas en metionina, presentan concentraciones plasmáticas aumentadas de este aminoácido y niveles bajos de cisteína. Cuando los lactantes son alimentados con leche materna o con fórmulas lácteas enriquecidas en proteínas del suero lácteo, ricas en cisteína, las concentraciones de este aminoácido se normalizan. La administración de cisteína con la dieta parece fundamental puesto que, a bajas concentraciones tisulares, este aminoácido se incorpora preferentemente a las proteínas y no al glutatión, por lo que se afecta el sistema de defensa antioxidante celular; efectivamente, la biodisponibilidad de cisteína es el paso limitante en la síntesis de glutatión.

La cisteína es también un aminoácido indispensable en la enfermedad hepática, ya que su biosíntesis está comprometida. En algunas patologías, como la cirrosis hepática, la actividad de la cistationasa es muy baja, lo que explica la necesidad absoluta de que estos enfermos ingieran proteínas con abundante cisteína. Ésta es la razón por la que los

suplementos dietéticos para el tratamiento de las hepatopatías incorporan proteínas del suero lácteo con una elevada relación de cisteína/metionina (*ver Capítulo 4.31*).

2.3. Glicina

La glicina es un aminoácido con propiedades glucogénicas, precursor importante en la síntesis de creatina, porfirinas, glutatión y nucleótidos, además de estar ampliamente representado en la proteína más abundante de los mamíferos, el colágeno. La ingesta media de glicina es de 3,2 g/día, pero existen varias líneas de evidencia que sugieren que se trata de un aminoácido condicionalmente esencial para los lactantes, especialmente para los recién nacidos prematuros. En animales, la proporción de síntesis de glicina disminuye cuando los aminoácidos no esenciales se eliminan de la dieta. Asimismo, se ha insinuado que la deficiencia de glicina puede ser responsable del crecimiento relativamente pobre del niño pretérmino alimentado exclusivamente con leche materna, ya que ésta tiene un contenido relativamente bajo de glicina. Utilizando la excreción urinaria de 5-oxoprolina como un índice del estatus nutricional de glicina, se ha especulado que los requerimientos de glicina pueden en ocasiones no satisfacerse por la madre lactante.

2.4. Glutamina

2.4.1. Funciones y metabolismo

La glutamina es un aminoácido con propiedades únicas que se sintetiza en cantidades suficientes para satisfacer las necesidades corporales cuando las circunstancias fisiológicas son normales. Por ello, se ha considerado clásicamente como un aminoácido no esencial. Sin embargo, en los últimos años se ha argumentado convincentemente que debe incluirse entre los aminoácidos condicionalmente esenciales, porque bajo condiciones de estrés metabólico, tales como la sepsis, el estrés quirúrgico o el politraumatismo, la demanda de glutamina aumenta y el ser humano es incapaz de sintetizarla en cantidades adecuadas.

La glutamina es el aminoácido más abundante en la sangre, con concentraciones basales que alcanzan 650 mmol/l. También es el aminoácido que se encuentra en mayor cantidad en las células. La glutamina constituye el 61% de los aminoácidos del músculo esquelético, por lo que representa la mitad del total de los aminoácidos corporales. Y transporta, juntamente con la alanina, más de la mitad del nitrógeno de los aminoácidos circulantes.

Esta gran concentración corporal de glutamina se justifica por las importantes y diversas funciones que tiene este aminoácido y que se pueden resumir así:

a) Incorporación a proteínas.

b) Transformación reversible en glutamato. La glutamina se forma a partir del glutamato por la actividad de la glutamina sintetasa. Con la excepción de su incorporación a proteínas, las demás funciones de la glutamina suponen su conversión en glutamato por la acción de la glutaminasa (*ver Capítulo 1.14, apartado 1.4, Figura 7*). Como se ha descrito en el apartado 3.2 del Capítulo 1.14, la glutamina cumple un papel fundamental en la desintoxicación del amoniaco tisular, ya que lo utiliza para formarse a partir de glutamato en los tejidos periféricos y lo libera en el hígado y la corteza renal. La glutamina puede considerarse, por tanto, como una forma circulante de almacenamiento de amoniaco. Vale la pena resaltar que la síntesis de glutamina a partir de glutamato puede también realizarse en el hígado con fines desintoxicantes. Esto es lo que sucede en los hepatocitos perivenosos con objeto de evitar que el amoniaco no empleado para sintetizar urea en los hepatocitos periportales pueda acceder a la circulación general (*ver Capítulo 1.14, apartado 3.2, Figura 13*). En la corteza renal, el grupo amida de la glutamina se usa para formar iones amonio y contribuir al equilibrio ácido-básico del organismo (*ver Capítulo 1.14, apartado 3.2, Figura 12*).

c) El grupo amido de la glutamina participa en la síntesis de compuestos diversos, que incluyen nucleótidos o sus precursores (carbamil-fosfato) (*ver Capítulo 2.15*), asparragina y glucosamina. Es especialmente destacable la participación de la glutamina en la síntesis de nucleótidos, ya que resulta fundamental en la proliferación celular, que requiere una intensa formación de ácidos nucleicos.

d) Una vez realizada la desamidación de la glutamina, el glutamato resultante puede utilizarse en la síntesis de proteínas o incorporse a la molécula de glutatión. Otros destinos metabólicos del glutamato son su descarboxilación a ácido γ-aminobutírico (GABA) o su inclusión en los folatos.

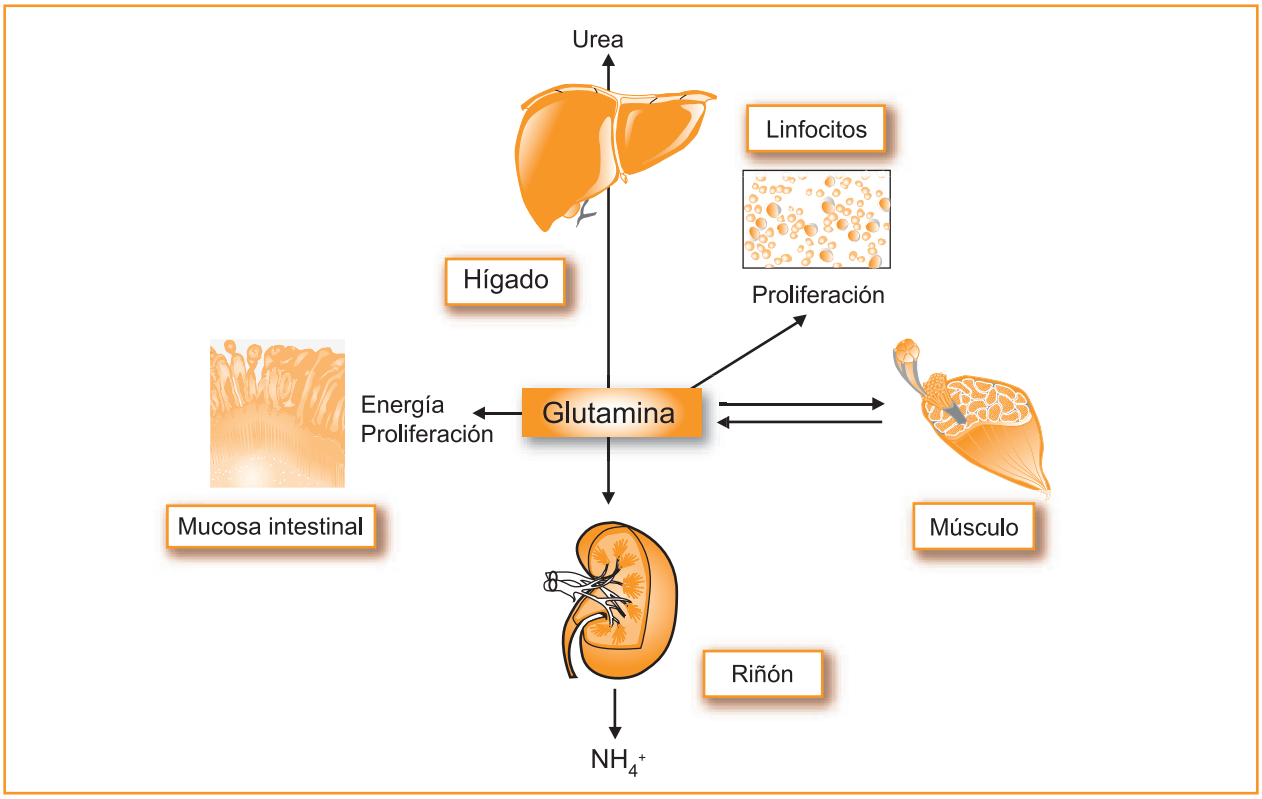


Figura 8. *Interrelaciones tisulares en el metabolismo de la glutamina.*

e) El glutamato se emplea también en la síntesis de aminoácidos a partir de cetoácidos, mediante reacciones de transaminación (*ver Capítulo 1.14, apartado 3.1*). Tras su uso en las reacciones de transaminación, el glutamato se convierte en α-cetoglutarato. Este compuesto es un intermediario del ciclo de Krebs, que puede utilizarse de forma energética o ser un intermediario en la síntesis de glucosa, lípidos, aminoácidos y bases púricas y pirimidínicas.

De acuerdo con las funciones que se acaban de considerar, las interrelaciones tisulares en el metabolismo de la glutamina se esquematizan en la **Figura 8**.

2.4.2. Utilización clínica

La utilización clínica de la glutamina está indicada en situaciones catabólicas graves. En estos casos, administrada en soluciones parenterales como dipéptido, puede ser de gran utilidad en diversos tejidos y células con gran intensidad de proliferación (mucosa intestinal, linfocitos, etc.), y su aporte exógeno puede frenar la salida de este aminoácido desde sus reservas musculares. De esta forma se evita la depleción muscular en glutamina, la atrofia de las vellosidades intestinales y la necrosis intestinal.

2.4.2.1. Glutamina e intestino

En el periodo 1974-1980, Windmueller y Spaeth demostraron el papel de la glutamina en el desarrollo del intestino y observaron que este órgano utiliza el 25% del flujo sistémico de glutamina. En el intestino, la glutamina es el principal sustrato energético y la molécula precursora de ornitina, citrulina, prolina y arginina, así como de nucleótidos púricos y pirimidínicos, y de otras moléculas implicadas en la glicosilación de proteínas. A pesar de que la glutamina y el glutamato son sustratos intercambiables para el sistema celular de la mucosa intestinal, hay evidencias crecientes que indican que la glutamina desempeña un papel específico para el intestino. En efecto, la glutamina no sólo es extraída de la circulación arterial por el intestino, sino que también es sintetizada tanto en las células de la cripta como en las células apicales,

y la inhibición específica de la síntesis coarta la proliferación y la diferenciación de los enterocitos. Así, la glutamina, además de sus funciones metabólicas, parece representar una función reguladora del crecimiento y la diferenciación de la mucosa intestinal a través de la activación de proteínas kinasas implicadas en el ciclo celular.

Varios estudios en humanos utilizando NP con soluciones que contienen glutamina han demostrado que la administración de este aminoácido eleva los niveles plasmáticos circulantes de glutamina y mejora el balance nitrogenado, aunque no en todos los casos se ha podido constatar un beneficio clínico. Por el contrario, la administración de suplementos de glutamina por vía enteral no mejora el balance de nitrógeno, pero sí la morbilidad.

Un efecto posible de la glutamina es su influencia en la síntesis de aminoazúcares y, como consecuencia, en la síntesis de proteínas de la matriz extracelular y en la estructura de la mucosa, especialmente de las uniones cerradas (*tight junctions*). Además, como molécula precursora de N-acetilglucosamina y N-acetilgalactosamina, la glutamina puede desempeñar un papel fundamental en la síntesis de mucina y, por tanto, en el mantenimiento de la barrera pasiva de la mucosa frente al ingreso de microorganismos.

El papel del suministro de glutamina a pacientes cancerosos es controvertido. Por una parte, este aminoácido puede favorecer el crecimiento tumoral. Por otra, tiene claros efectos beneficiosos, como el mantenimiento de la mucosa intestinal y de la masa muscular y la estimulación del sistema inmune. Las perspectivas parecen interesantes, ya que los estudios en animales de experimentación son claramente positivos en el sentido antitumoral.

2.4.2.2. Glutamina en la sepsis, la infección, el trauma y otros estados catabólicos

La infección grave modifica sensiblemente el flujo de la glutamina entre diferentes órganos, y estos cambios están acompañados por alteraciones importantes en el transporte a través de las membranas y del metabolismo intracelular. El músculo esquelético, el mayor depósito corporal de glutamina, aumenta hasta dos veces la liberación de este aminoácido durante la infección, así como la síntesis endógena. No obstante, a pesar del incremento en la actividad de la glutamina sintetasa del músculo esquelético, el *pool* de glutamina intracelular disminuye de forma notable, lo que indica que la liberación es mucho mayor que la síntesis. Sin embargo, el *pool* circulante de glutamina no desciende, porque existe una captación incrementada en otros órganos. El hígado es el órgano que capta más cantidad de glutamina durante una infección grave. Así, estudios realizados en roedores endotoxémicos han demostrado que el flujo neto de glutamina al hígado se eleva entre ocho y diez veces, lo cual se debe en parte al mayor flujo de sangre al órgano, pero también al ascenso de la actividad del sistema de transporte activo hasta 3 o 4 veces.

Algunas citokinas, como el factor de necrosis tumoral α (TNF-α), las interleukinas 1 y 6 (IL-1 e IL-6), y los glucocorticoides, parecen ser las moléculas responsables del incremento de la captación de glutamina al elevar la actividad del sistema de transporte por un mecanismo desconocido, pero probablemente regulado a nivel postranscripcional, ya que tanto las citokinas como los glucocorticoides no aumentan el mRNA del sistema N. Además, el TNF-α, las IL-1 e IL-6, el interferón-γ y los glucocorticoides estimulan la degradación proteica muscular por activación del sistema ubiquitina-proteasoma (*ver Capítulo 1.6*).

El intestino disminuye su capacidad de utilización de glutamina durante la infección grave, una respuesta que parece regulada por el descenso en el factor análogo a la insulina de tipo I (***I**nsulin-Like **G**rowth **F**actor **I***, IGF-1), característico de la sepsis. Por otra parte, los linfocitos y los macrófagos aumentan el consumo de glutamina durante los procesos infecciosos y, en general, en los procesos inflamatorios, debido a su mayor proliferación. Bajo estas condiciones de flujo de glutamina alterado, la disponibilidad de dicho aminoácido para el sistema inmunológico limita algunas funciones celulares claves, como la fagocitosis y la producción de anticuerpos. Además, en muchos pacientes críticos, la vía intestinal no suele utilizarse, porque los enfermos están siendo nutridos por vía parenteral, que carece generalmente de glutamina.

En varios estados catabólicos, como el trauma grave, la sepsis, el trasplante de precursores hematopoyéticos, así como durante la quimioterapia intensiva y la radiación, los niveles plasmáticos de glutamina descienden. La disponibilidad reducida de este aminoácido en dichas condiciones conduce a una alteración de las funciones inmunológicas, debido a la capacidad disminuida de las células para pro-

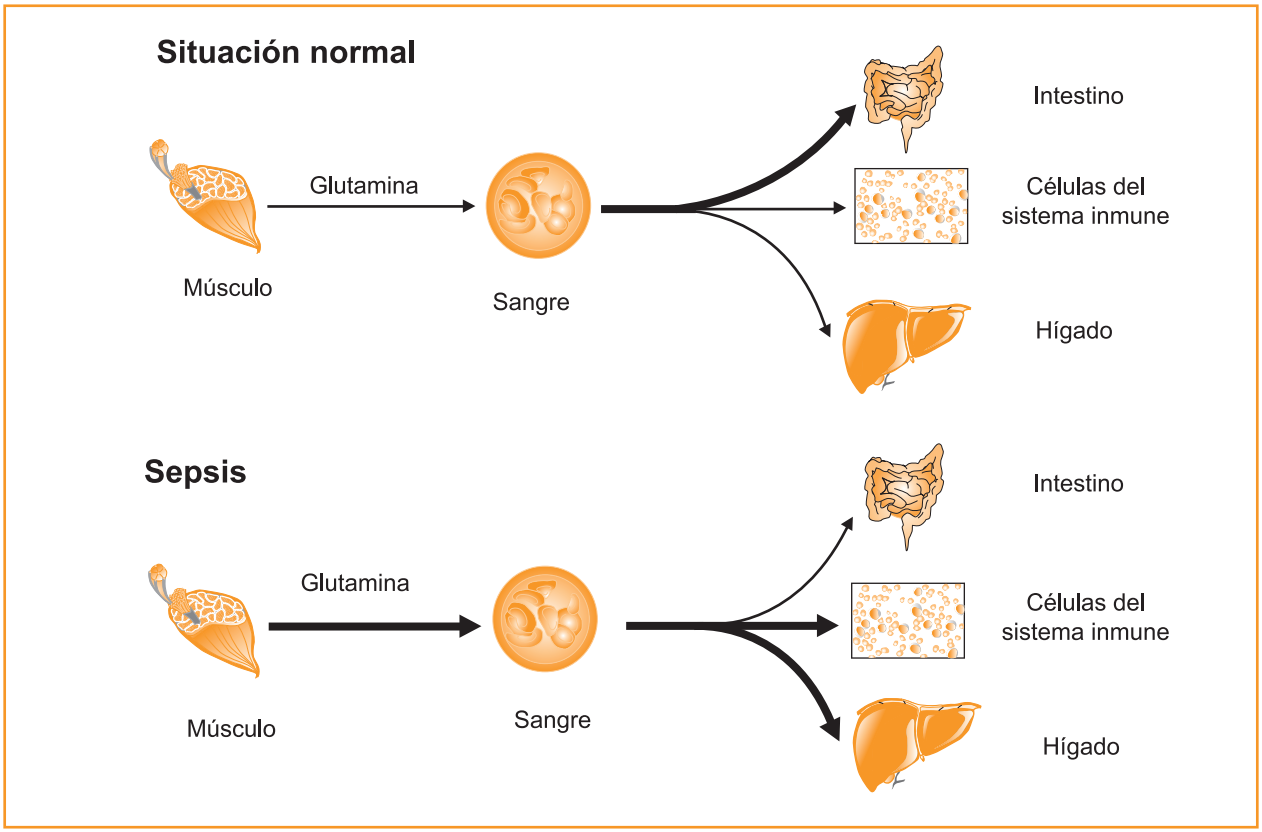


Figura 9. *Alteraciones en el flujo de glutamina entre órganos durante la sepsis. El grosor de las flechas indica el flujo preferente.*

liferar. La **Figura 9** resume las alteraciones en el flujo de glutamina entre órganos durante los estados catabólicos.

En las situaciones catabólicas se ha demostrado que la administración de glutamina exógena por vía parenteral en forma estable, como dipéptidos solubles alanil-glutamina o glicil-glutamina, conjuntamente con otros agentes anabólicos que promueven la captación de nutrientes, resulta beneficiosa para los pacientes. La administración de glutamina mejora la respuesta al estrés metabólico y el balance nitrogenado, preservando la glutamina muscular y la distribución de agua corporal al prevenir la expansión del agua extracelular y reducir la retención de fluidos. Además, en los pacientes críticos con alteración de la barrera intestinal, la glutamina exógena puede proteger al huésped de las complicaciones derivadas de la endotoxemia. Un posible mecanismo para los efectos saludables de la glutamina en las situaciones catabólicas graves es que contribuya a la síntesis de arginina y, como consecuencia, de NO, aumentando la vasodilatación.

La administración de dipéptidos permite la esterilización por calor de las soluciones de aminoácidos y el incremento del contenido en glutamina. Por otra parte, los dipéptidos son rápidamente hidrolizados por las hidrolasas presentes en las membranas celulares, por lo que enseguida son aclarados del plasma, sin que existan pérdidas apreciables por orina.

En el caso del trasplante de precursores hematopoyéticos parece particularmente indicada la utilización de nutrición parenteral enriquecida con glutamina, conjuntamente con la administración de agentes citorreductores y de factores de crecimiento hematopoyéticos. Aunque la eficacia terapéutica de las dietas suplementadas con glutamina por vía oral está en duda, debido a que el intestino metaboliza en gran parte el aminoácido adicionado, en un estudio reciente sobre las evidencias clínicas para el uso de la nutrición enteral con glutamina se ha constatado que la dietas con suplementos de este aminoácido son bien toleradas, mejoran la respuesta inmunológica de los pacientes con trauma múltiple y suponen una reducción de costo en los pacientes críticos.

2.4.2.3. Glutamina y cáncer

La transformación neoplásica se acompaña de aumentos adaptativos en la síntesis de nucleótidos y de proteínas, paralelos a la proliferación celular. Las elevadas tasas de síntesis proteica en los tumores en crecimiento suponen un gasto continuo, tanto de aminoácidos esenciales como no esenciales. Así, los tumores actúan como "trampas de nitrógeno", compitiendo activamente con el huésped por los componentes nitrogenados e incorporando aminoácidos tanto para su oxidación como para la síntesis proteica. Como la glutamina es el aminoácido más abundante, los tumores se consideran "trampas de glutamina". Así, existe un flujo neto de glutamina desde los tejidos del huésped al tumor. Por el contrario, en el bazo, un órgano importante del sistema inmune, hay un aumento de la actividad de la glutaminasa, que contribuye a disminuir la disponibilidad de glutamina para la proliferación linfocitaria. Además, la progresión del tumor, asociada con un ávido consumo de glutamina, conduce a una depresión en la actividad de las células NK, implicadas en la eliminación de células malignas.

Por tanto, la suplementación de la dieta con glutamina puede producir efectos muy diversos en estos pacientes. Por un lado facilitaría la actividad de las células NK. Por otro, el suministro exógeno de glutamina podría tener el efecto indeseable de alimentar al tumor. Hay que tener en cuenta, además, que se pueden emplear análogos de glutamina como medicación antitumoral, lo que complica todavía más el panorama. Varios estudios clínicos han demostrado, sin embargo, que la administración de glutamina restaura la función de las células NK y mejora el metabolismo proteico en los pacientes. Además, la glutamina aumenta la selectividad de los fármacos antitumorales, al proteger al paciente del daño oxidativo a través de un incremento del glutatión celular. Por otra parte, en estudios con pacientes con cáncer que reciben radioterapia no se han observado efectos saludables derivados de la administración de glutamina, por lo que actualmente no existe consenso sobre su utilización en pacientes con cáncer. No obstante, en un análisis reciente de las evidencias clínicas para el uso de nutrición enteral con glutamina se ha detectado que es útil en la mejora de la mucositis en pacientes que han recibido quimioterapia.

2.5. Prolina

La prolina es un aminoácido dispensable que puede sintetizarse desde glutamato y, asimismo, puede convertirse en este último aminoácido en el catabolismo nitrogenado. Así, puede ser una buena fuente de glutamato y, a su vez, es utilizado por otros tejidos como fuente de energía (*ver Capítulo 1.14*).

La prolina se incorpora en los tejidos proteicos y puede hidroxilarse hasta hidroxiprolina. Tanto la prolina como la hidroxiprolina se encuentran en cantidades elevadas en el colágeno. Las medias de ingesta dietética para la prolina se han establecido en 5,2 g/día, aunque los jóvenes pueden llegar a ingerir hasta 12 g/día.

2.6. Tirosina

En los adultos sanos, la tirosina es considerada un aminoácido dispensable porque puede sintetizarse a partir de fenilalanina en el hígado, en una reacción catalizada por la fenilalanina hidroxilasa. Sin embargo, la actividad de esta enzima es baja en la enfermedad hepática y en el fallo renal crónico. Asimismo, en los recién nacidos, especialmente en los prematuros, la actividad de la fenilalanina hidroxilasa es relativamente baja, pudiendo ser la causa de la aparición de fenilalaninemias transitorias. En estas circunstancias, la tirosina es un aminoácido esencial y debe aportarse en cantidades adecuadas en la dieta. La ingesta media de tirosina es de 2,8 g/día, aunque en los adultos se alcanzan dosis de hasta 6,4 g/día. La ubicuidad de la tirosina en los alimentos permite la aportación de este aminoácido en cantidades suficientes incluso en situaciones de enfermedad.

3. Derivados de aminoácidos de interés nutricional

3.1. Carnitina

La L-carnitina (β-hidroxi-γ-trimetilamino-butirato) es un derivado de los aminoácidos lisina y metionina ampliamente distribuido en todos los teji-

dos de los mamíferos y particularmente abundante en el tejido muscular. Es una molécula fundamental en la oxidación de los ácidos grasos y, por tanto, en el metabolismo energético. Su función mejor conocida es la de actuar como lanzadera de los ácidos grasos de cadena larga, facilitando su entrada a la matriz mitocondrial donde son oxidados. La L-carnitina parece también propiciar la salida de ácidos grasos de cadena corta desde la mitocondria al citosol (*ver Capítulo 1.12*).

Otras funciones de la carnitina son la protección de la estructura de las membranas celulares y la reducción de la producción de lactato. Por otra parte, numerosas observaciones han enfatizado el papel de la carnitina en el control del ciclo celular. Varias evidencias sugieren que la apoptosis celular inducida por adición de palmitato o estearato a los medios de cultivo se correlaciona con la síntesis *de novo* de ceramida; la carnitina inhibe la muerte celular programada al prevenir la hidrólisis de la esfingomielina y la consecuente síntesis de ceramida. Este efecto es específico para la esfingomielinasa ácida, que disminuye su actividad en presencia de acetil-carnitina.

3.1.1. Metabolismo

Los requerimientos de carnitina se satisfacen por biosíntesis endógena a partir de lisina y metionina, llevada a cabo en el hígado y en el riñón, y por la dieta. La leche y los productos lácteos, la carne y el pescado son fuentes ricas en carnitina. Por el contrario, los vegetales y los granos son fuentes pobres en este compuesto. La carnitina libre es absorbida de forma prácticamente completa en el intestino delgado. La proporción de carnitina sintetizada depende de una serie de factores, tales como la carnitina de la dieta y la coexistencia de estados patológicos como el fallo renal, la diabetes mellitus, el abuso de alcohol, la isquemia del miocardio y el cáncer.

En la vía biosintética de la carnitina, los cuatro carbonos de la cadena y el nitrógeno derivan de la lisina, y los tres grupos metilo son aportados por la S-adenosil metionina (SAM). En todos los mamíferos, algunos residuos de lisina presentes en las proteínas son metilados por proteína-lisina-metiltransferasas que usan SAM como donante de grupos metilo. El producto metilado es un residuo de 6-N-trimetil-lisina que se encuentra en numerosas proteínas, como las histonas, la miosina, la calmodulina y el citocromo *c*. La 6-N-trimetil-lisina es liberada por proteólisis y sufre cuatro reacciones hasta convertirse en carnitina. La primera reacción es una hidroxilación catalizada por la trimetil-lisina hidroxilasa. La segunda reacción, catalizada por la β-hidroxi-trimetil-lisina aldolasa, libera glicina y γ-trimetilamino-butiraldehído. Este último compuesto es oxidado hasta γ-butirobetaína por la acción de la correspondiente deshidrogenasa. Y en la última reacción, la γ-butirobetaína es hidroxilada por la γ-butirobetaína hidroxilasa para dar carnitina **(Figura 10)**.

Las dos reacciones de hidroxilación están catalizadas por dioxigenasas que requieren hierro, α-cetoglutarato y un agente reductor tal como el ácido ascórbico. Como es bien conocido, la fatiga es uno de los síntomas característicos de la deficiencia de vitamina C, que probablemente se debe al déficit en la biosíntesis de carnitina.

El sitio mayoritario para la formación de trimetil-lisina es el músculo esquelético, aunque todos los tejidos tienen capacidad para crearla, dependiendo de la biodisponibilidad de los sustratos. Una vez que la trimetil-lisina es hidroxilada dentro de cada tejido puede pasar a la circulación sistémica, y la γ-butirobetaína es hidroxilada, fundamentalmente en el hígado y en el riñón, para dar carnitina, que es distribuida de nuevo a otros tejidos.

3.1.2. Utilización clínica

La deficiencia de carnitina en la especie humana se describió por primera vez en 1973. Desde entonces se han diagnosticado más de 100 casos de deficiencia genética de carnitina. El mecanismo bioquímico que da lugar a esta insuficiencia parece deberse a las anomalías funcionales de un transportador específico de iones de carnitina. Esta deficiencia puede ser sistémica o simplemente miopática, y provoca una serie de síndromes que incluyen debilidad muscular progresiva con infiltración lipídica del músculo esquelético y concentración reducida de carnitina muscular, cardiomiopatía, hipoglucemia grave, concentraciones elevadas de amonio en sangre y capacidad disminuida de producción de cuerpos cetónicos en respuesta al ayuno.

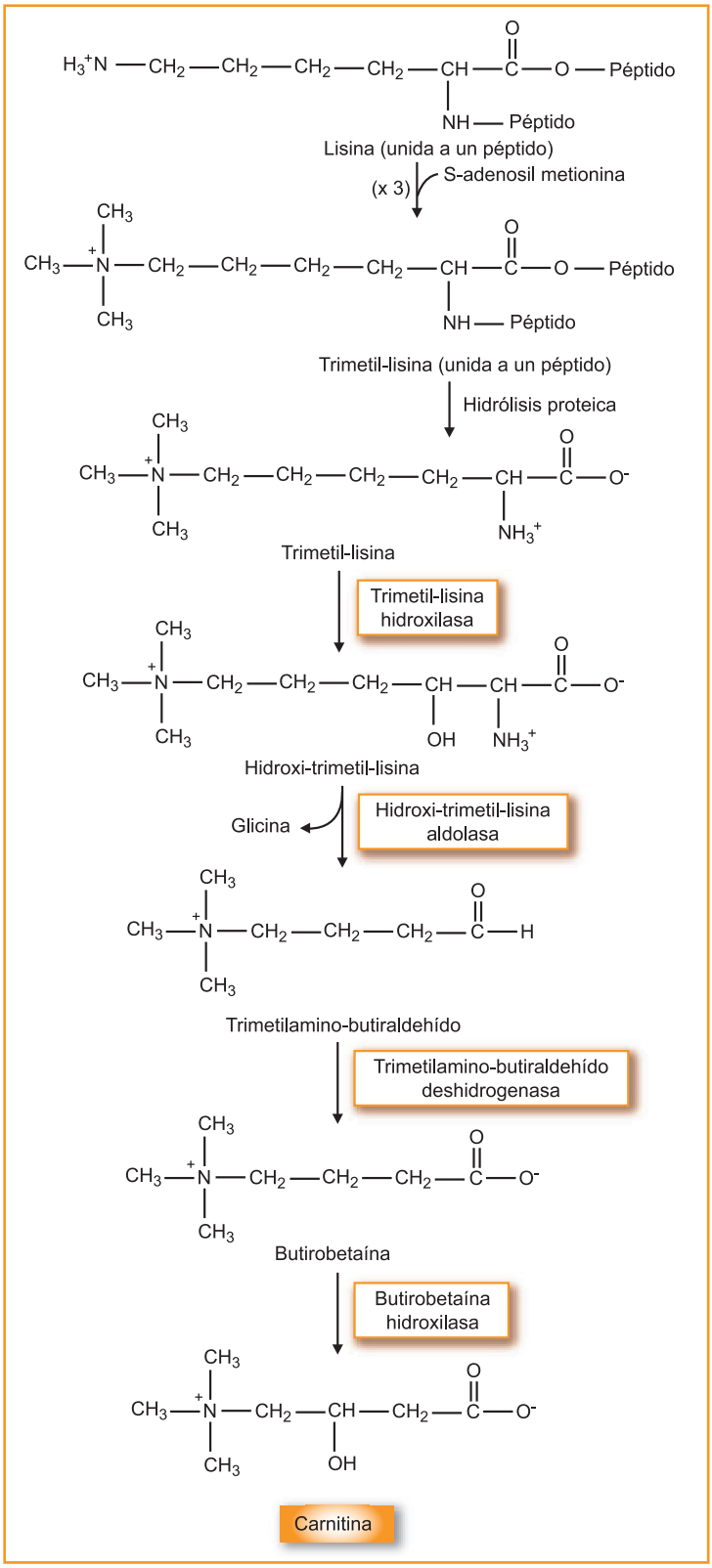


Figura 10. *Biosíntesis de carnitina.*

La deficiencia de carnitina puede también ocurrir conjuntamente con otras alteraciones metabólicas tales como la aciduria orgánica, o ser secundaria a algunos tratamientos médicos como la diálisis renal, la nutrición parenteral de larga duración y el tratamiento con ácido valproico. En pacientes con trastornos tubulares renales, en los cuales la excreción de carnitina puede ser excesiva, y en pacientes con hemodiálisis, la deficiencia secundaria de carnitina es muy frecuente. En estos últimos, la insuficiencia se debe a pérdida de carnitina a través de las membranas de filtración, aunque también la síntesis está disminuida.

Numerosos estudios han demostrado que la complementación con carnitina mejora sensiblemente las complicaciones cardiacas y la capacidad para realizar ejercicio, así como la sintomatología muscular, la hipotensión intradialítica y la anemia resistente a la eritropoyetina, normalizando la actividad reducida de la carnitina palmitolil transferasa. La *Food and Drug Administration* de EE UU ha aprobado la utilización de la carnitina, no sólo para el tratamiento, sino también para la prevención de su deficiencia en los pacientes sometidos a hemodiálisis.

Aunque el adulto bien nutrido puede sintetizar probablemente cantidades adecuadas de carnitina, el recién nacido parece tener unos depósitos reducidos, así como una baja capacidad de síntesis. Es posible que la carnitina sea un nutriente condicionalmente esencial para el recién nacido prematuro. Cuando los recién nacidos normales son alimentados con fórmulas lácteas exentas de carnitina, las concentraciones plasmáticas de carnitina descienden y se asocian a concentraciones plasmáticas elevadas de ácidos grasos libres y excreción aumentada de ácidos dicarboxílicos de cadena media, aunque las implicaciones bioquímicas de estos hallazgos son inciertas. La leche humana contiene 50-100 nmol/ml de carnitina. Sin embargo, los neonatos alimentados con fórmulas a base de soja, o a los

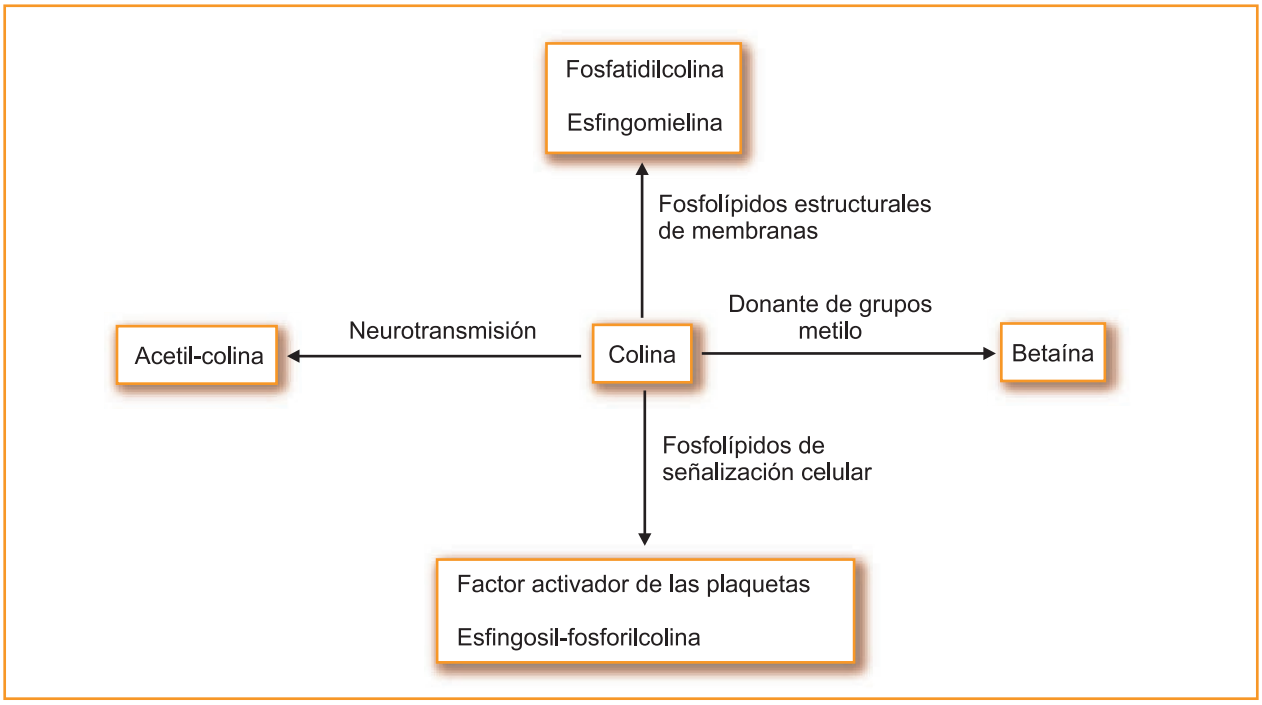


Figura 11. *Destinos metabólicos de la colina.*

que se les administra nutrición parenteral total, no reciben carnitina exógena, lo que conduce a bajas concentraciones plasmáticas de este compuesto. Por todo ello, las recomendaciones internacionales de composición de fórmulas infantiles para lactantes durante el primer año de vida incluyen la obligatoriedad de complementación con carnitina para alcanzar concentraciones similares a las de la leche humana.

3.2. Colina

La colina es una amina cuaternaria (trimetiletanolamina) cuya presencia en los mamíferos se conoce desde que se descubrió y aisló de la bilis en la segunda mitad del siglo XIX. La colina es un componente de la dieta importante para la integridad de las membranas celulares, el metabolismo de los fragmentos monocarbonados, la neurotransmisión, la señalización intracelular y el transporte y metabolismo lipídico. Está presente como base libre y formando parte de fosfolípidos en la mayor parte de los alimentos, aunque se encuentra de forma más abundante en los huevos, en las vísceras animales (hígado, cerebro y pulmón), en una amplia variedad de carnes y vegetales, y en frutos secos.

En los humanos, la colina desempeña varias funciones importantes. Es la biomolécula precursora de la fosfatidilcolina y de la esfingomielina, dos fosfolípidos estructurales que forman parte de las membranas biológicas, preferentemente localizados en la parte externa de las mismas, que sirven, además, como precursores de mensajeros intracelulares tales como el diacilglicerol o la ceramida (*ver Capítulo 1.5*). Los fosfoacilgliceroles que contienen colina representan los fosfolípidos más abundantes de las membranas celulares, constituyendo el principal depósito corporal de colina para el humano. Asimismo, la fosfatidilcolina es un componente estructural destacado de las lipoproteínas plasmáticas, permitiendo la exportación de quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad. Además, el surfactante pulmonar, cuyo componente más importante es la dipalmitoil lecitina, previene la adherencia de las superficies internas de los pulmones. La disminución del surfactante en los pulmones de los niños prematuros causa el síndrome de distrés respiratorio.

La colina es también la precursora de dos lípidos implicados en la señalización celular, el factor

de activación de las plaquetas y la esfingosil-fosforilcolina, así como de un neurotransmisor, la acetil-colina. Además, la colina puede ser oxidada enzimáticamente hasta betaína, y los grupos metilo de ésta pueden ser utilizados para resintetizar metionina a partir de la homocisteína, suministrando metionina para la síntesis proteica y para las reacciones de transmetilación. Otro producto final de esta reacción es la glicina, por lo que la colina es una fuente alternativa para este aminoácido. La betaína se requiere también por las células glomerulares renales, como osmolitos orgánicos, que le permiten adaptarse al estrés osmótico. Los destinos metabólicos de la colina aparecen reflejados en la **Figura 11**.

3.2.1. Esencialidad

En 1912, Casimir Funk acuñó el término de *amina vital* para describir los compuestos orgánicos que se necesitan ingerir con la dieta en pequeñas cantidades para el mantenimiento de la salud; este término evolucionó más tarde hacia "vitamina", y la colina cumple con el concepto de la definición original. Es una amina que tiene que ingerirse con la dieta, aunque los humanos pueden sintetizarla en pequeñas cantidades a partir de la etanolamina y de grupos metilo derivados de la metionina. La colina se requiere como nutriente esencial para algunas especies animales, como la rata, el cobaya, el gato y el perro, y, muy probablemente, para los humanos.

La importancia de la colina como nutriente se debe a los estudios pioneros relacionados con la insulina. En perros pancreatomizados con terapia insulínica se desarrollaba esteatosis hepática y morían, mientras que la administración de fosfatidilcolina pancreática prevenía el daño hepático. Asimismo, en la rata se asoció la infiltración grasa con la deficiencia de colina en la dieta. Además, se sugirió que la terapia con colina podría ser útil en la hepatopatía alcohólica. Por otra parte, en 1975 se descubrió que la administración de colina aceleraba la síntesis y liberación de acetilcolina por las neuronas.

No obstante, la colina se ha considerado como un nutriente dispensable porque el resto de colina puede sintetizarse *de novo* por metilación secuencial de la fosfatidiletanolamina y porque no ha podido demostrarse un síndrome de deficiencia en los humanos, dada su presencia ubicua en los alimentos, así como las elevadas reservas corporales en los fosfolípidos de membrana. Sin embargo, existen varias líneas de evidencia que indican que la colina es esencial para los humanos:

a) Las células en cultivo tienen un requerimiento absoluto de colina para crecer y mueren por apoptosis en su ausencia.

b) Los adultos humanos alimentados con dietas deficientes en colina muestran niveles plasmáticos más bajos de este compuesto.

c) Los humanos desnutridos poseen concentraciones plasmáticas bajas de colina.

d) Los humanos nutridos por vía parenteral durante periodos largos con soluciones que no contienen colina desarrollan alteraciones hepáticas similares a las observadas en los animales deficientes en colina.

En 1998, el Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias de EE UU clasificó por primera vez la colina como un nutriente esencial para los humanos y dictó las recomendaciones de ingesta adecuada. Las demandas dietéticas de colina se modifican a causa de sus interrelaciones metabólicas con otros nutrientes esenciales, como metionina, folato y vitamina B_{12}, todos ellos implicados en el metabolismo de los fragmentos monocarbonados y, en particular, en las reacciones de metilación. Con este tipo de interdependencia de nutrientes, la clasificación de la colina como nutriente esencial exige demostrar que su tasa de síntesis no es suficiente para satisfacer las necesidades corporales cuando se dispone de los otros nutrientes (metionina, folato y vitamina B_{12}) en cantidades adecuadas. Así, se ha demostrado que en adultos sanos con un estatus normal de folato y vitamina B_{12} que ingieren una dieta deficiente en colina se desarrolla daño hepático, y la síntesis *de novo* de colina no es suficiente para satisfacer sus requerimientos. Sin embargo, se necesita más información para conocer las necesidades de colina en mujeres, lactantes, niños y ancianos.

3.2.2. Fuentes dietéticas e ingesta

La colina se encuentra en los alimentos en forma libre o en forma esterificada como fosfocolina, glicerofosfocolina, esfingomielina y fosfatidilcolina. La lecitina es una fracción rica en fosfatidilcolina obtenida a partir de la purificación comercial de fosfo-

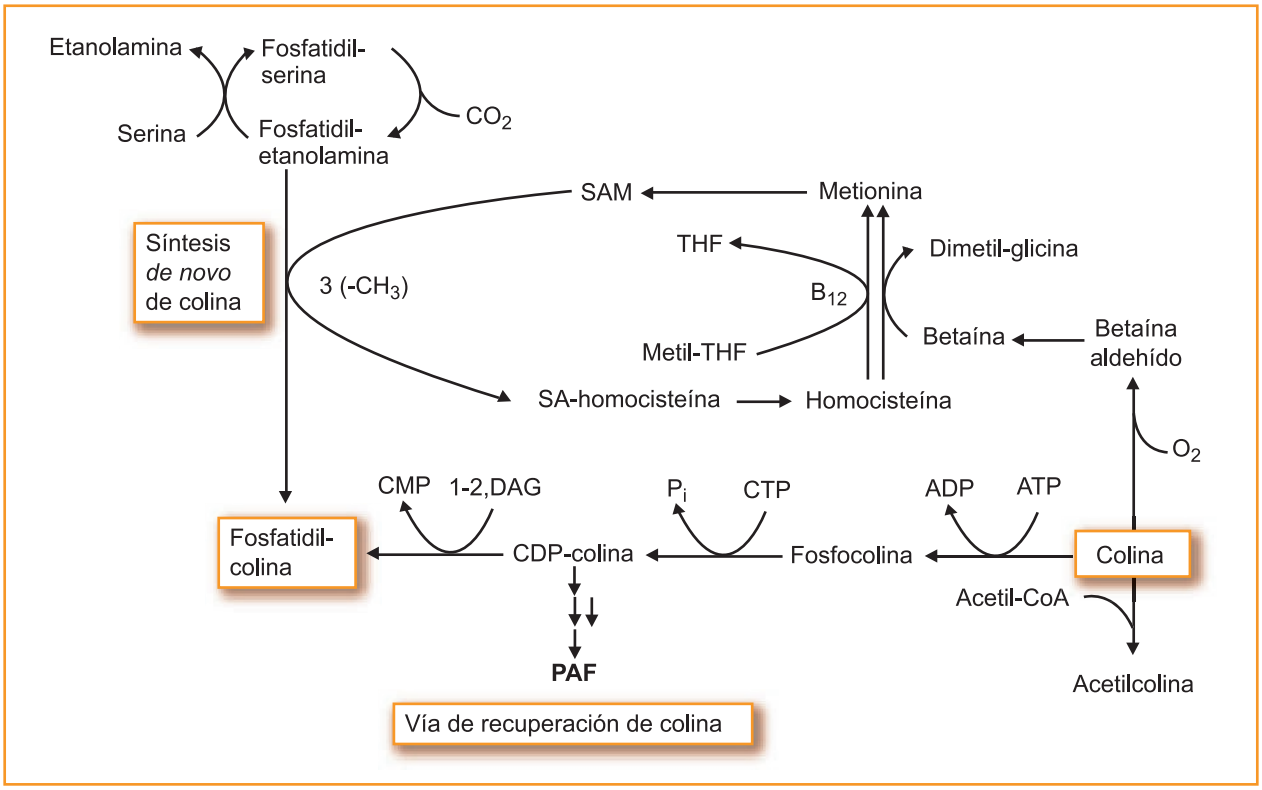


Figura 12. *Biosíntesis de la fosfatidil colina. SAM: S-adenosil metionina; THF: tetrahidrofolato; CMP: citidín monofosfato; DAG: diacilglicerol; CDP: citidín difosfato; CTP: citidín trifosfato; ADP: adenosín difosfato; ATP: adenosín trifosfato; PAF: factor activador de las plaquetas.*

lípidos, y este término es a menudo intercambiable con el de fosfatidilcolina. La lecitina se añade a numerosos alimentos como agente emulsionante.

Los huevos, el hígado, la carne de buey, la coliflor, la soja y los cacahuetes son ejemplos de alimentos ricos en lecitinas; y la carne de buey, los cacahuetes, la lechuga, la coliflor y el pan, de alimentos en los que la colina se encuentra en forma libre. La leche bovina madura y las fórmulas lácteas infantiles, fabricadas a partir de ella, contienen aproximadamente 200 µmol/l de cada una de las especies químicas colina, fosfatidilcolina y esfingomielina, mientras que el calostro y la leche de transición incluyen cantidades de tres a cuatro veces mayores. Las fórmulas infantiles manufacturadas a partir de aislados proteicos de soja poseen un contenido de colina tres o cuatro veces superior al de las fórmulas lácteas. El calostro y la leche de transición humana tienen aproximadamente 2 mmol/l de colina, de los cuales 550 µmol/l corresponden a colina libre, 400 µmol/l a colina de fosfolípidos, y 800 µmol/l a colina presente en fosfocolina y glicerofosfocolina.

La ingesta media diaria de colina se estima en alrededor de 400 a 900 mg en el adulto, mientras que la de fosfatidilcolina en los países occidentales oscila entre 6 y 10 g/día. En el caso del lactante, asumiendo una toma de leche de 150 ml/kg/día, la ingesta de colina es de 200-250 µmol/kg/día, lo que supone de dos a tres veces la de un adulto.

3.2.3. Absorción, metabolismo y excreción

3.2.3.1. Absorción

La colina de la dieta se absorbe a partir del lumen del intestino delgado mediante un proceso de transporte activo. Antes de su absorción, parte es metabolizada hasta betaína y trimetilamina por las bacterias; la propia betaína es absorbida y puede servir en el organismo como donante de grupos metilo. No se conocen otros componentes de la dieta que compitan por el transporte de colina.

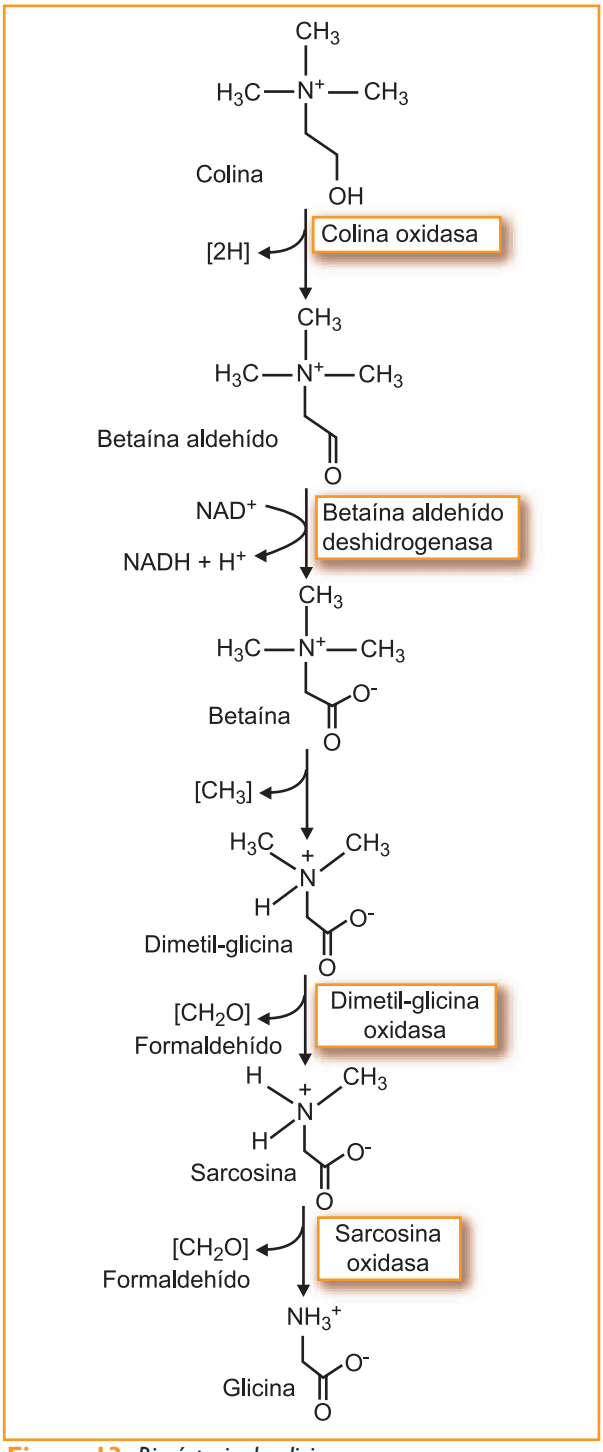


Figura 13. *Biosíntesis de glicina.*

Las fosfolipasas A_1, A_2 y B pancreáticas pueden liberar colina a partir de fosfocolina, glicerofosfocolina y fosfatidilcolina. La colina libre, una vez absorbida, alcanza la circulación portal. Asimismo, puede ser reutilizada en los enterocitos para formar fosfatidilcolina y entrar en la linfa a través de los quilomicrones.

Todos los tejidos acumulan colina por difusión y por transporte activo. Existe un mecanismo específico de transporte de colina en la barrera hematoencefálica cuya velocidad es proporcional a la concentración de colina sérica. En el neonato, este transportador exhibe una capacidad muy elevada, que disminuye con la edad. Por otra parte, el hígado capta colina en cantidad suficiente para explicar la desaparición de la inyectada a la circulación sistémica. Asimismo, la glándula mamaria y la placenta son dos órganos que captan y almacenan colina en elevadas proporciones. La captación activa de la colina por la glándula mamaria explica por qué su concentración en la leche es 60 veces mayor que la encontrada en el plasma sanguíneo. El riñón también acumula colina; parte de ella aparece en la orina, pero la mayor parte es oxidada hasta betaína.

3.2.3.2. Biosíntesis de la fosfatidilcolina

La biosíntesis de fosfatidil colina tiene lugar por dos vías **(Figura 12)**. En la vía predominante, o **vía de recuperación**, la colina, procedente de la dieta o de la degradación endógena de fosfolípidos, es fosforilada hasta fosfocolina y convertida sucesivamente hasta CDP-colina y fosfatidilcolina. En la vía alternativa, o **biosíntesis *de novo***, la fosfatidil etanolamina es metilada secuencialmente para formar fosfatidilcolina, utilizando como donante de grupos metilo a la SAM, reacción catalizada por la enzima fosfatidiletanolamina-N-metiltransferasa.

La vía biosintética *de novo* es muy activa en el hígado, aunque se ha demostrado en otros muchos tejidos. Aproximadamente entre un 15 y un 40% de la fosfatidilcolina hepática procede de síntesis *de novo*, pero no se dispone de datos acerca de la colina obtenida por procesos de recambio celular de los fosfolípidos. Por lo que se refiere a la ingesta dietética, la cantidad de fosfatidilcolina ingerida oscila entre 6-10 g/día.

3.2.3.3. Otras vías metabólicas

La colina puede ser acetilada hasta acetilcolina, reacción catalizada por la colina acetiltransfe-

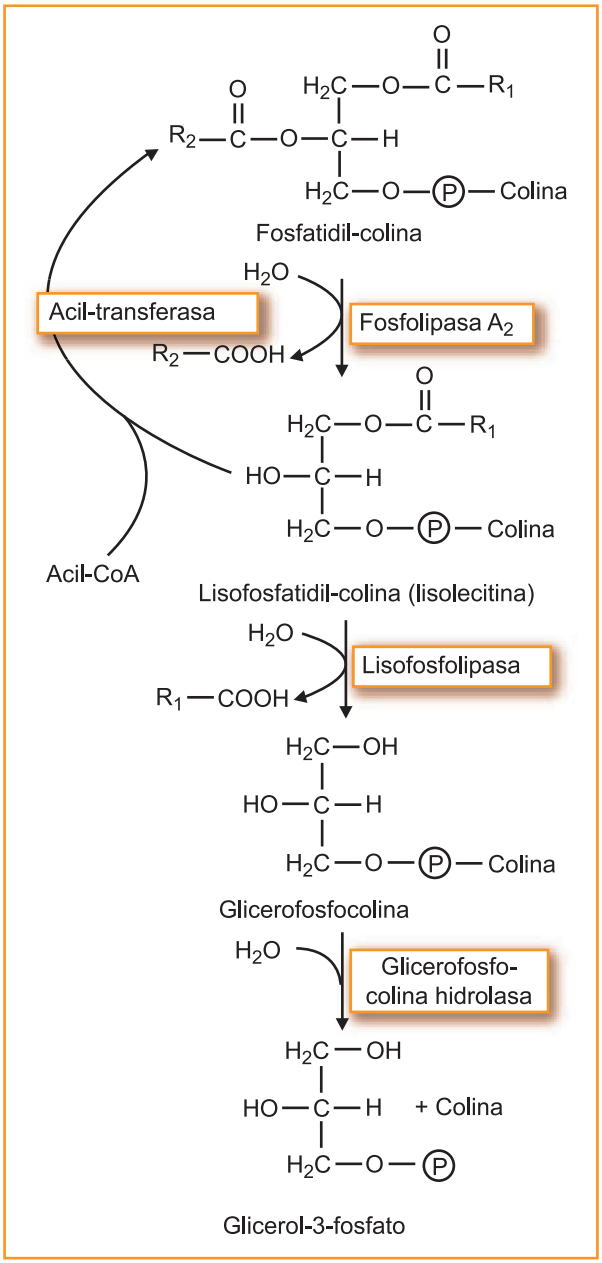


Figura 14. *Vía degradativa de la fosfatidil colina.*

rasa en varios tejidos, especialmente en los terminales de las neuronas colinérgicas, aunque también está presente en otros tejidos, como la placenta. La biodisponibilidad de colina y de acetil-CoA influencia la actividad de la colina acetil-transferasa. Asimismo, la colina puede ser oxidada sucesivamente hasta aldehído de betaína, precursor de la trimetilamina, y betaína. Esta última cede un grupo metilo a la homocisteína para regenerar metionina y se convierte en dimetilglicina, reacción catalizada por la betaína-homocisteína metiltransferasa **(Figuras 12 y 13)**. Esta última reacción es una alternativa a la vía metabólica de regeneración de metionina que utiliza metiltetrahidrofolato; por tanto, la colina supone un ahorro de metiltetrahidrofólico en la síntesis de ácidos nucleicos. Posteriormente, la dimetilglicina, en dos reacciones de dimetilación , se convierte en glicina **(Figura 13)**. Así, la colina supone un sustrato alternativo a la síntesis de glicina a partir de glioxilato y glutamato o alanina, reacciones catalizadas por glicina aminotransferasas, y a partir de serina (*ver Capítulo 1.14*).

El factor de activación de las plaquetas (PAF) (1-alkil-2-acilglicerol-3-fosfocolina) se sintetiza a partir de CDP-colina y el correspondiente 1-alkil-2-acilglicerol. El PAF se forma en muchas células sanguíneas y otros tejidos, y agrega las plaquetas en concentraciones tan pequeñas como 10^{-5} µM; tiene también propiedades hipotensoras y ulcerogénicas, y está implicado en una serie variada de respuestas biológicas que incluyen la inflamación, la quimiotaxis y la fosforilación de proteínas.

Las lecitinas, como todos los fosfolípidos, son degradadas activamente. Esto es debido a la presencia de enzimas que permiten su degradación parcial o total. La fosfolipasa A_2 cataliza la hidrólisis de la fosfatidilcolina para dar un lisofosfolípido y un ácido graso que, a su vez, puede ser reacilado con un acil-CoA en presencia de una aciltransferasa. Alternativamente, la lisofosfatidilcolina puede ser atacada por la lisofosfolipasa formando glicerofosfocolina, que puede ser atacada por una hidrolasa liberando colina y glicerol-3-fosfato **(Figura 14)**. La fosfatidilcolina presente en los alimentos es hidrolizada de esta manera por las enzimas digestivas, y la colina resultante es absorbida y reutilizada para la síntesis de fosfolípidos y de otras moléculas biológicas.

3.2.4. Utilización clínica

3.2.4.1. Colina en la gestación y la lactancia

Se ha demostrado que la placenta humana es capaz de sintetizar colina *de novo*, además de transportarla eficientemente a partir del plasma materno. Durante la gestación, especialmente en el tercer trimestre, las mujeres son más susceptibles

a desarrollar hígado graso, probablemente debido a que los requerimientos de colina no se satisfacen adecuadamente. De hecho, el contenido hepático de colina disminuye de forma considerable en los animales desde el comienzo de la gestación hasta el parto.

La demanda de compuestos que contienen colina es muy elevada durante el crecimiento y el desarrollo, por lo que las necesidades diarias pueden exceder la capacidad de síntesis del recién nacido. Parece que los neonatos humanos, especialmente los recién nacidos prematuros, pueden precisar un suministro dietético diario de colina. La Academia Americana de Pediatría ha recomendado que las fórmulas infantiles contengan 7 mg de colina por 100 kcal. Este dato está basado en la cantidad de colina presente en la leche humana, que provee colina en forma de lecitina y de esfingomielina.

3.2.4.2. Colina y enfermedad hepática

Existen numerosas investigaciones en animales que indican que la ingesta crónica inadecuada de colina provoca graves consecuencias, como alteraciones del crecimiento y de la funcionalidad del cerebro, hígado, páncreas y riñón. Sin embargo, sólo hay un estudio publicado que examine los efectos de la ingesta inadecuada de colina en los humanos sanos. Este trabajo demuestra que la disminución de los depósitos corporales de colina durante 3 semanas eleva la alanina aminotransferasa, un indicador de daño hepático.

Asimismo, varios estudios clínicos en pacientes sometidos a nutrición parenteral total con soluciones deficientes en colina han probado que se desarrolla esteatosis hepática y daño hepatocelular, que revierte al administrar colina. Por otra parte, el suministro de lecitina dos veces por semana a pacientes que reciben NP total durante 6 semanas aumenta las concentraciones plasmáticas de colina hasta en un 50%. En el grupo tratado, las alteraciones hepáticas disminuyen en un 30%. La administración de cloruro de colina parece igualmente efectiva para normalizar las concentraciones plasmáticas (7-20 µmol/l) y reducir las complicaciones hepáticas. De cualquier forma, hay que señalar que la deficiencia de colina en la NP total no es frecuente, ya que los lípidos utilizados contienen cantidades elevadas de fosfatidilcolina como agente emulsionante (una emulsión de lípidos al 20% contiene aprox. 13 µmol/l). No obstante, se ha estimado que los pacientes sometidos a NP total necesitan durante la primera semana un aporte de 1.000-1.700 µmol de fosfatidilcolina/día para mantener los niveles de colina plasmáticos.

Los suplementos utilizados por vía enteral contienen colina, por lo que contribuyen a elevar los niveles plasmáticos de los pacientes que han estado recibiendo NP. Las dietas ricas en hidratos de carbono dan lugar a unas mayores necesidades de colina, ya que condicionan una mayor síntesis de lípidos que tienen que ser "envueltos" adecuadamente en forma de lipoproteínas.

Se ha investigado la posibilidad de que la cirrosis alcohólica resulte, al menos en parte, de una ingesta inadecuada de colina. Sin embargo, parece que el daño hepático se debe más al efecto tóxico del alcohol o de éste en combinación con deficiencia de otros factores nutricionales. En cualquier caso, la administración de colina por vía oral a enfermos cirróticos reduce la esteatosis hepática y la fibrosis. Asimismo se ha observado que el suministro de dilinoleil-fosfatidilcolina tanto a ratas como a primates y humanos con hepatopatía alcohólica mejora las alteraciones del metabolismo lipídico hepático (*ver Capítulo 4.31*).

Por otra parte, la deficiencia de colina se asocia en roedores con una mayor incidencia de hepatocarcinoma y una mayor sensibilidad a los carcinógenos químicos, probablemente relacionados con cambios en la actividad de la proteína kinasa C. Sin embargo, no existen datos en humanos que hayan evaluado el papel de la colina en la prevención del cáncer.

3.2.4.3. Colina y enfermedad cardiovascular

La lecitina ha sido utilizada para disminuir las concentraciones de colesterol plasmático, ya que la lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT) desempeña un papel fundamental en la eliminación de colesterol de los tejidos periféricos (*ver Capítulo 1.11*). Sin embargo, la ingesta de lecitina provoca sólo una ligera disminución del colesterol plasmático en los humanos. Por otra parte, el tratamiento con colina o con betaína se ha empleado para reducir los niveles de homocisteína plasmática. Además, el tratamiento con betaína resulta más eficaz que el tratamiento con folato para normalizar la homocisteína y la metionina plasmáticas en niños

Tabla 3. RECOMENDACIONES DEL *INSTITUTE OF MEDICINE* DE EE UU SOBRE INGESTAS ADECUADAS DE COLINA EN LOS HUMANOS

	(mg/día)	
Lactantes		
0-6 meses	125	18 mg/kg
7-12 meses	150	17 mg/kg
Niños		
1-3 años	200	
4-8 años	250	
9-13 años	375	
Adolescentes varones		
14-18 años	550	
Adolescentes mujeres		
14-18 años	400	
Adultos varones		
19-> 70 años	550	
Adultos mujeres		
19-> 70 años	425	
Gestación		
14-50 años	450	
Lactación		
14-50 años	550	

Fuente: IOM (1999).

con homocistinuria. Por tanto, la ingesta de colina podría correlacionarse con el riesgo de enfermedad cardiovascular.

3.2.4.4. Colina y demencia

La administración oral de colina como cloruro de colina (2-5 g) o de lecitina (10-15 g) eleva las concentraciones plasmáticas de 10 a 40 µmol. Dosis más elevadas de este compuesto aumentan los niveles de acetilcolina, lo cual puede ser interesante en ciertas enfermedades neurológicas, especialmente en la vejez.

Estudios llevados a cabo en roedores sugieren que la ingesta dietética de colina durante la vida posnatal temprana puede disminuir la gravedad de los déficits de memoria en la vejez. La mayor parte de los estudios realizados en humanos han empleado compuestos que contienen colina para tratar, más que para prevenir, los síntomas de la demencia. Por tanto, se desconoce si la ingesta de colina podría ser útil en la prevención de la demencia senil.

3.2.5. Recomendaciones internacionales de ingestas adecuadas

No existen datos suficientes para establecer los requerimientos de colina. Sin embargo, sí se han estimado las ingestas adecuadas. Como se ha comentado anteriormente, las necesidades de ingesta pueden ser influenciadas por la disponibilidad dietética de metionina, de folato y de vitamina B_{12}, además de por el género, la gestación, la lactación y el estado de desarrollo. La **Tabla 3** muestra las recomendaciones internacionales para las ingestas adecuadas de colina en los humanos del *Institute of Medicine* de los EE UU.

3.3. Poliaminas

Las poliaminas son derivados de la ornitina y de la metionina implicados en la multiplicación y en el crecimiento celular. Asimismo, son factores de crecimiento de las células cultivadas de mamíferos y de bacterias, y se considera que intervienen en la estabilización de células intactas, orgánulos subcelulares y membranas. Las poliaminas más importantes son la putrescina y sus derivados espermidina y espermina, ambos polímeros del diamino-propano y del diamino-butano **(Figura 15)**. Por sus múltiples cargas positivas, las poliaminas se unen con facilidad a los polianiones, como el DNA y el RNA, estabilizando a estas moléculas y contribuyendo a su empaquetamiento. Las poliaminas también ejercen efectos diversos sobre la síntesis proteica y actúan como inhibidores de algunas proteína kinasas.

3.3.1. Metabolismo

El sustrato para la síntesis de poliaminas es la ornitina. En el proceso de biosíntesis de poliaminas, la ornitina es descarboxilada por la ornitina descarboxilasa (ODC) hasta putrescina (1,4 diamino-butano), y ésta reacciona con la

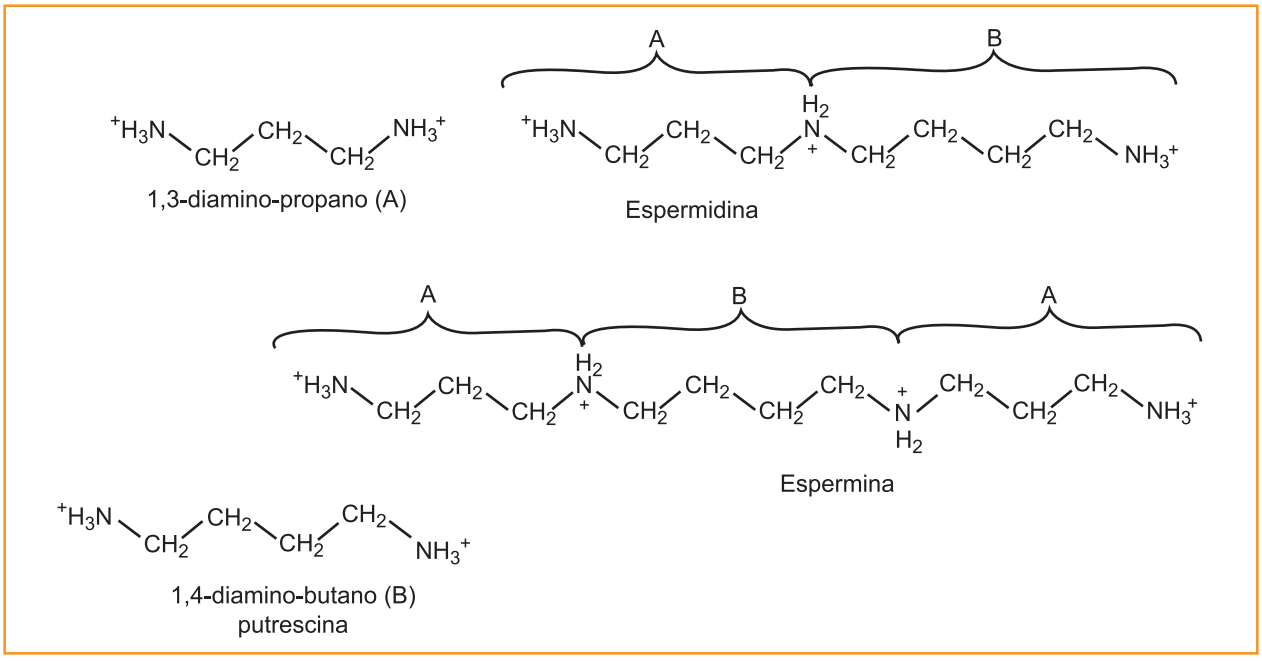


Figura 15. *Estructura química de las poliaminas.*

SAM descarboxilada, que transfiere un resto de diamino-propano para formar espermidina (1,3 diamino-propano-1,4 diamino-butano) liberando metil-tioadenosina. Una nueva reación de la espermidina con SAM descarboxilada genera espermina **(Figura 16)**. Estas dos últimas reacciones están catalizadas por la espermidina sintasa y la espermina sintasa. La descarboxilación de la SAM está catalizada por la SAM descarboxilasa. Tanto la ODC como la SAM descarboxilasa son enzimas inducibles de vida media muy corta, mientras que la espermina y espermidina sintasas no son inducibles y resultan relativamente estables. Así, la administración de hormona del crecimiento a cultivos de células de mamíferos, de corticosteroides o de factor de crecimiento epidérmico (EGF) da lugar a incrementos en la actividad de la ODC que oscilan entre 20 y 200 veces.

Aunque la producción de ornitina se lleva a cabo preferentemente en el hígado por la actividad de la arginasa-I, existe otra forma de esta enzima, denominada arginasa-II, presente en casi todos los tejidos, que puede generar la cantidad necesaria de ornitina para la síntesis de poliaminas. Asimismo, la prolina, dentro de la mitocondria, puede oxidarse hasta pirrolina-5-carboxilato y convertirse posteriormente de manera espontánea por hidratación en semialdehído glutámico, que por transaminación con α-cetoglutarato da lugar a ornitina (*ver Capítulo 1.14, apartado 5.4*). Aunque la ODC es la enzima limitante en la producción de poliaminas, una segunda enzima, la arginina descarboxilasa (ADC), también sintetiza poliaminas; esta enzima descarboxila arginina, pero también ornitina. Además, la enzima agmatinasa puede utilizar la agmatina (arginina descarboxilada) como sustrato para la formación de putrescina, tanto en humanos como en animales **(Figura 17)**.

La arginina no sólo es el sustrato para la síntesis de poliaminas, sino que indirectamente estimula la síntesis de poliaminas al activar la liberación de la hormona de crecimiento, que a su vez induce la liberación de IGF-1, dando como resultado final un incremento de la ODC. Por otra parte, la agmatina regula las concentraciones intracelulares de poliaminas al disminuir la actividad de la ODC y aumentar la expresión de la antizima, una proteína que hace que descienda la actividad de la ODC y que acelere su degradación. Además, tanto la agmatina como la antizima reducen la actividad del transportador de poliaminas, limitando la captación extracelular de poliaminas.

La degradación de las poliaminas se realiza en los peroxisomas hepáticos por la actividad de la enzima poliamina oxidasa. Esta enzima oxida la espermina hasta espermidina liberando peróxido de

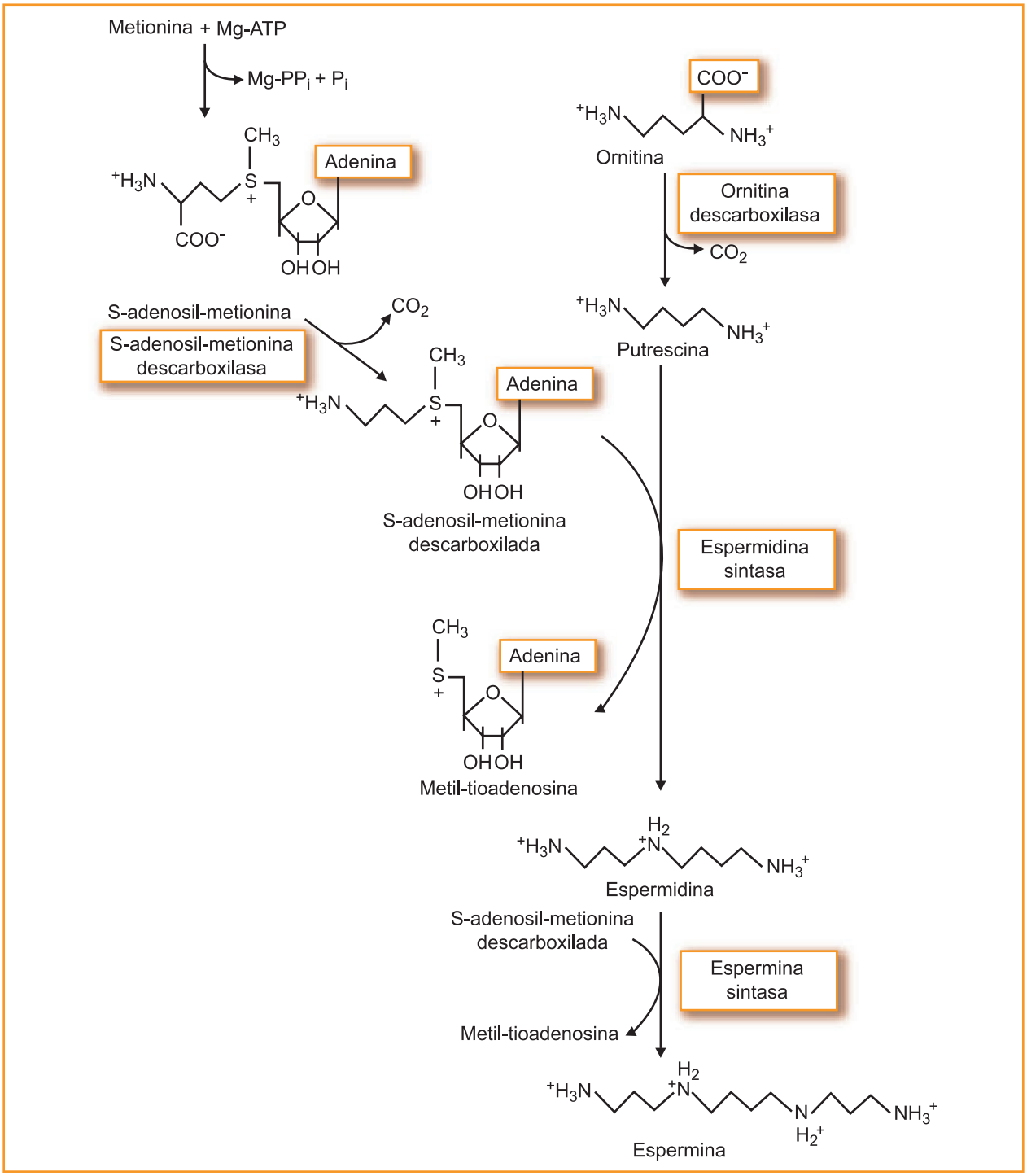


Figura 16. *Biosíntesis de poliaminas.*

hidrógeno y β-aminopropionaldehído. Posteriormente, en una reacción semejante, la espermidina se degrada hasta putrescina. Esta última es oxidada hasta amonio y anhídrido carbónico por un mecanismo desconocido. Sin embargo, una proporción importante de las poliaminas circulantes son excretadas en la orina como conjugados, principalmente como acetil derivados.

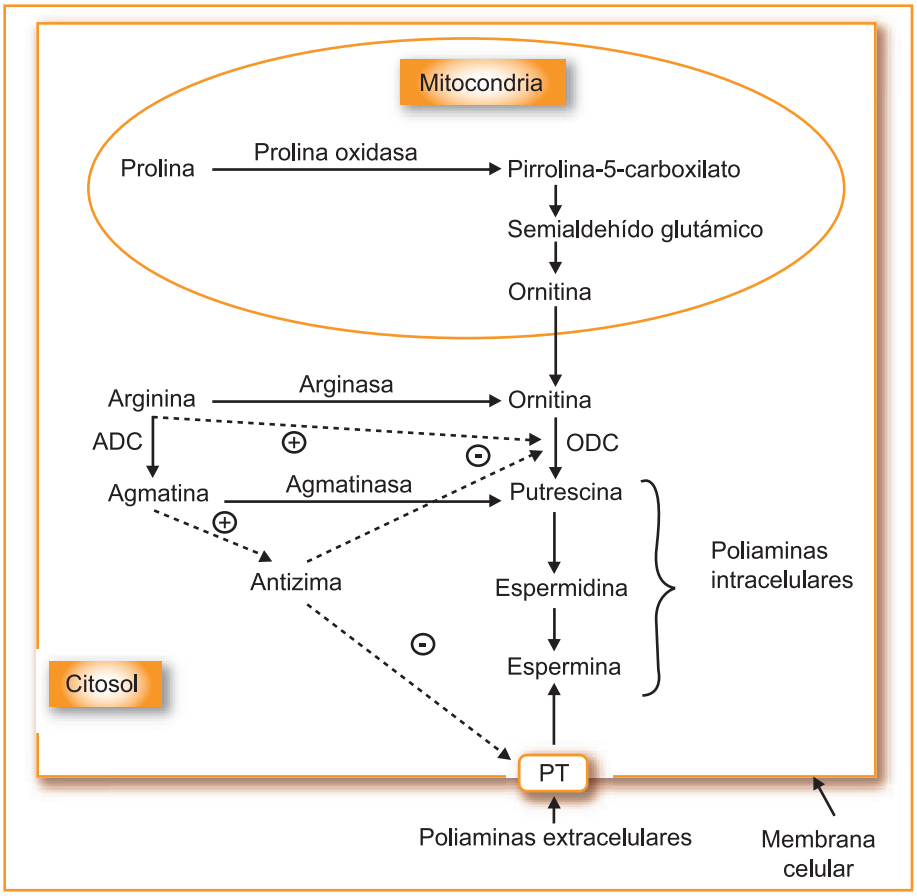


Figura 17. *Compartimentación celular y regulación de la síntesis de poliaminas. ODC: ornitina descarboxilasa; ADC: arginina descarboxilasa. PT: transportador de poliaminas.*

3.3.2. Utilización clínica

Las poliaminas presentes en los alimentos pueden tener un papel potencial en el crecimiento y desarrollo del sistema digestivo, al menos en los neonatos, ya que parecen necesarias para mantener un crecimiento y desarrollo adecuados del intestino. Sus posibles efectos terapéuticos sobre el tracto gastrointestinal y sobre la curación de heridas están siendo investigados en los últimos años.

Las poliaminas se localizan en cantidades elevadas en la leche humana. Sin embargo, en las leches artificiales son prácticamente indetectables. Así, los recién nacidos alimentados con leche materna se benefician de los efectos potenciales de estos compuestos sobre el desarrollo intestinal y sobre la microbiota del intestino grueso. Se ha sugerido que la captación de poliaminas preformadas, putrescina y espermidina, por los enterocitos puede contribuir a mantener el *pool* intracelular de poliaminas. Las células intestinales, especialmente las células apicales, pueden transportar putrescina y otras poliaminas en cantidades muy altas, dada la gran afinidad del transportador por estas sustancias.

La depleción total, tanto endógena como exógena, de poliaminas altera las propiedades y funciones de la mucosa intestinal. La restricción se produce en dos situaciones: tras el ayuno y por la administración de inhibidores de la síntesis, especialmente la α-difluorometilornitina. Durante el ayuno prolongado (24-48 h) se origina un descenso del peso de la mucosa intestinal, con una disminución concomitante en la síntesis de DNA, RNA y proteínas, así como en la de poliaminas; el contenido de putrescina se reduce en un 50%, y algo menos los de espermidina y espermina. De forma paralela, la actividad de la ODC baja entre un 50 y un 95% en todas las células a lo largo del eje cripta-vellosidad. Durante el periodo de ayuno, la respuesta adaptativa consiste en la activación del transporte basolateral y la captación de poliaminas desde la circulación hasta el enterocito.

La inducción del crecimiento mucosal coincide con un incremento en la actividad de la ODC, lo que indica que las poliaminas necesarias para el crecimiento son sintetizadas de forma mayoritaria por esta enzima, aunque la captación de poliaminas procedentes de los alimentos puede también contribuir a restaurar el *pool* intracelular con un menor coste energético. No todas las poliaminas sintetizadas o captadas por los enterocitos son utilizadas para el crecimiento; una parte apreciable de la putrescina, hasta un 30%, puede ser oxidada hasta amonio y anhídrido carbónico y servir de combustible metabólico.

La renutrición después de la cirugía produce un incremento temprano pero transitorio de la actividad de la ODC. La reperfusión tisular va seguida de un aumento rápido de la ODC muy parecido a lo que ocurre en la renutrición tras un periodo de ayuno prolongado.

Aunque el incremento de la síntesis de poliaminas es necesario en todos los procesos de reparación tisular, se desconoce hasta qué punto el suministro de poliaminas en la dieta puede desempeñar un papel relevante en la recuperación de los tejidos dañados, especialmente el intestino y el hígado, así como en la regeneración de la microbiota intestinal. Además, se sabe muy poco acerca de los efectos específicos de determinados nutrientes sobre la actividad de la ODC en el intestino. Por otra parte, la combinación de tratamientos farmacológicos con inhibidores de la ODC, activadores de la poliamina oxidasa y dietas exentas de poliaminas podría ser útil en el control del crecimiento tumoral. En este sentido, resultados preliminares indican que la administración de una dieta baja en poliaminas es de utilidad en los pacientes con cáncer de colon.

3.4. Taurina

La taurina es una amina cuya estructura química corresponde al ácido β-amino-etano-sulfónico; se trata de un compuesto ubicuo y representa la amina intracelular más abundante en los mamíferos. Un hombre de 70 kg contiene aproximadamente 70 g de taurina, con una concentración intracelular de 5-50 mM, mientras que los niveles plasmáticos se sitúan en 100 µM.

Aunque inicialmente se pensó que la taurina era únicamente el producto final del metabolismo de los aminoácidos azufrados, en la actualidad parece bien establecido que este compuesto interviene en los procesos de excitación en el sistema nervioso central y en el músculo. Entre otras cosas, participa en la función de la retina y del corazón, la estabilización del potencial de membrana, la modulación del transporte de calcio, la osmorregulación, la neuromodulación, el mantenimiento de la capacidad antioxidante y la inhibición de la fosforilación de determinadas proteínas, además de ser fundamental para la formación de sales biliares conjugadas y para la función leucocitaria. La **Tabla 4** resume las funciones fisiológicas más importantes de la taurina.

Tabla 4. FUNCIONES FISIOLÓGICAS DE LA TAURINA

- Formación de ácidos biliares conjugados
- Excreción de colesterol
- Osmorregulación y regulación del volumen celular
- Transporte iónico (Na^+, Cl^- e intercambio Na^+-Ca^{2+})
- Inhibición de la fosforilación de proteínas
- Función retiniana
- Formación de N-clorotaurina en leucocitos
- Eliminación de compuestos carbonilo reactivos
- Desarrollo del feto y del recién nacido

3.4.1. Metabolismo

Los requerimientos de taurina se satisfacen con la ingesta dietética y por la síntesis *de novo* a partir de cisteína.

La metabolización de la cisteína hasta taurina ocurre mayoritariamente en el hígado. La cisteína es oxidada hasta ácido cisteín sulfínico por la enzima inducible cisteína dioxigenasa. El cisteín sulfinato puede descarboxilarse hasta hipotaurina mediante la cisteín sulfínico descarboxilasa o puede ser transaminado con α-cetoglutarato hasta sulfinilpiruvato, que espontáneamente se descompone en piruvato y sulfito. Se desconoce si en la oxidación final de hipotaurina hasta taurina interviene una enzima específica o la reacción es espontánea en presencia de oxígeno. La **Figura 18** muestra la vía de síntesis de taurina a partir de cisteína en el hígado. En otros tejidos existen otras vías alternativas para la síntesis de taurina, aunque cuantitativamente no son importantes. Así, se puede sintetizar a partir de N-acetilcisteína y glutatión.

Al contrario de lo que ocurre en otros mamíferos, como los roedores, la capacidad biosintética de taurina en el hombre es limitada y el recambio escaso. Asimismo, algunos tipos celulares, como los astrocitos, son capaces de sintetizarla, mientras que otros, como las neuronas, no pueden realizar dicha síntesis.

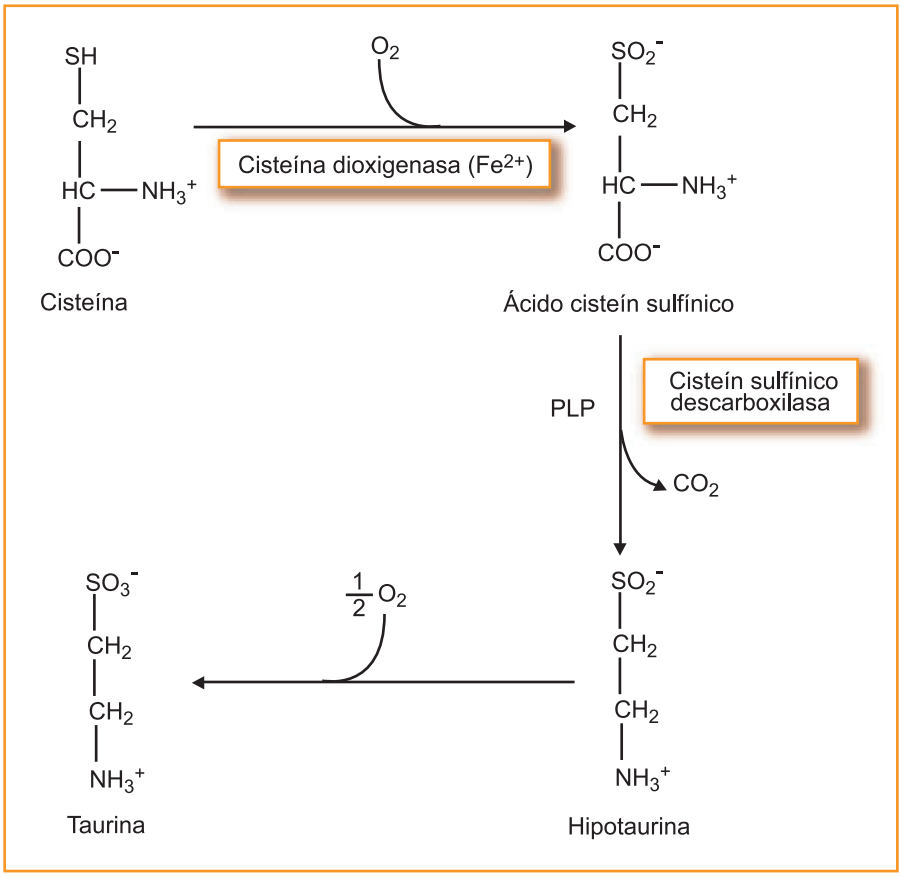


Figura 18. *Formación de taurina a partir de cisteína. PLP: piridoxal fosfato.*

3.4.2. Utilización clínica

La deficiencia de taurina se produce en monos jóvenes, felinos y otros animales de laboratorio, pero no se considera un compuesto esencial para la especie humana bajo circunstancias normales, ya que puede sintetizarse a partir de cisteína. La ingesta de taurina es usualmente inferior a 200 mg/día y se debe fundamentalmente a la toma de carne y pescado, siendo los niveles plasmáticos dependientes del contenido de aminoácidos azufrados de la dieta.

3.4.2.1. Taurina y desarrollo del lactante

Los recién nacidos humanos alimentados con fórmula, especialmente los recién nacidos prematuros, pueden tener un mayor riesgo de sufrir una insuficiencia de taurina que los alimentados al pecho, ya que las fórmulas basadas en leche de vaca contienen mucha menos cantidad de este compuesto (1-3 µmol/dl en las fórmulas no suplementadas frente a 25-35 µmol/dl en la leche humana). Por otra parte, se ha descrito que la actividad de la enzima cisteín sulfínico descarboxilasa es muy baja en el prematuro y madura en las primeras semanas después del nacimiento. Esto explica que se hayan observado bajos niveles plasmáticos y urinarios de taurina en los recién nacidos pretérmino en comparación con los alimentados al pecho. Aun así se mantienen las dudas acerca de la esencialidad de este compuesto, ya que no condiciona cambios de crecimiento, retención de nitrógeno o cambios metabólicos.

Los niños alimentados al pecho segregan fundamentalmente ácidos biliares conjugados con taurina, mientras que los alimentados con fórmula sin taurina lo hacen en forma de conjugados con glicina. Debido al carácter hidrofílico del ión sulfónico, el taurocolato es más soluble en agua que el glicocolato, lo que influencia la digestibilidad de la grasa dietética, así como su reabsorción. En los neonatos, especialmente en los prematuros de menos de 33 semanas de gestación, la suplementación con taurina de las fórmulas aumenta la síntesis de ácidos biliares tauroconjugados y la absorción de grasa. Asimismo, la taurina parece prevenir la colestasis.

La concentración de taurina en la retina es muy elevada y supone el 40-75% de los compuestos nitrogenados no proteicos libres, aunque su distribución en los diferentes tipos celulares es diferente. Durante los años setenta y ochenta del siglo XX se sospechó que los niños alimentados con fórmulas carentes de taurina podrían presentar anomalías en la función retiniana, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en gatos y monos que ingerían dietas deficientes en este compuesto. Sin embargo, estudios posteriores han confirmado que, al menos en los recién nacidos normales con una ingesta de cisteína adecuada,

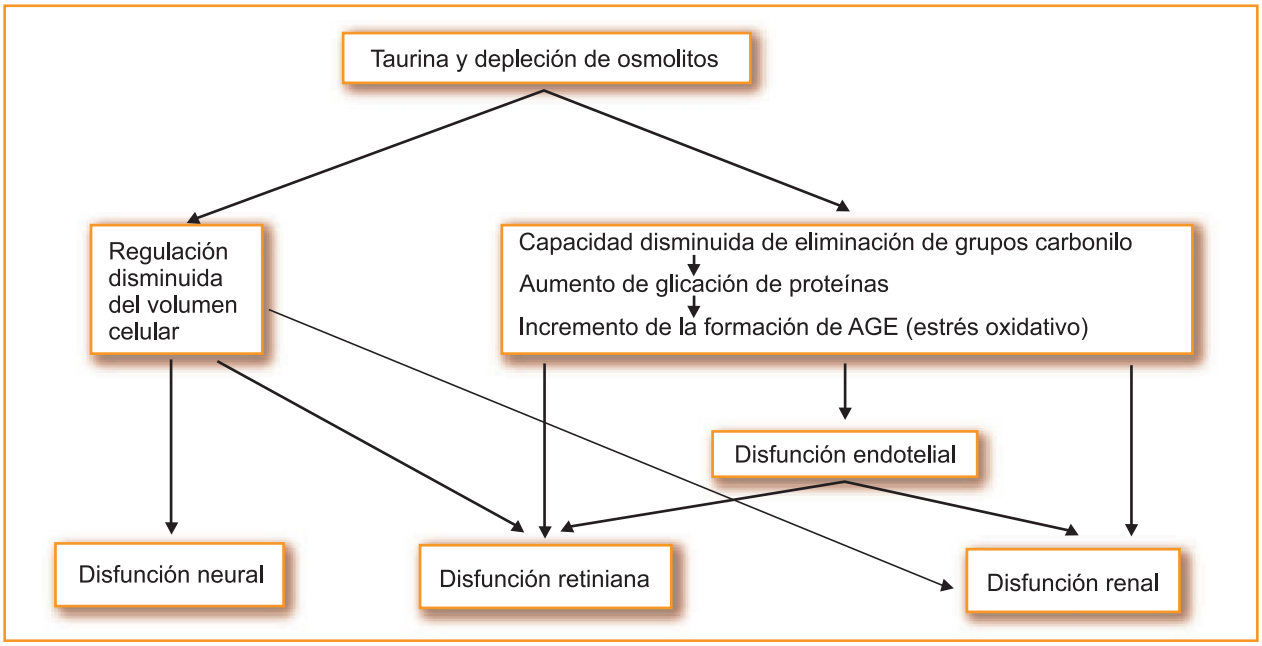


Figura 19. *Consecuencias de la depleción de taurina.*

tal y como ocurre con las fórmulas lácteas adaptadas, no se producen anomalías detectables en la función visual. No obstante, en los lactantes alimentados con NP durante un tiempo largo se recomienda la administración de taurina. Con independencia de las evidencias clínicas sobre los efectos reales de la suplementación con este compuesto, prácticamente todas las fórmulas infantiles llevan adición de taurina para igualar las concentraciones de la leche materna y mantener niveles plasmáticos de taurina similares a los de los niños alimentados al pecho.

Por otra parte, se ha descrito que niños prematuros con peso inferior a 1.500 g que reciben una fórmula con suplemento de taurina desarrollan respuestas auditivas más maduras. Asimismo, en el recién nacido de bajo peso alimentado con NP está en discusión si la inmadurez de la absorción renal de taurina causa depleción del *pool* corporal de este aminoácido.

3.4.2.2. Taurina y enfermedad cardiaca

La taurina es el compuesto nitrogenado no proteico libre más importante en el tejido cardiaco, representando alrededor del 50% y con concentraciones de 10-20 mM. A pesar de esta concentración tan elevada, el tejido cardiaco no sintetiza taurina, sino que la extrae de la circulación sanguínea mediante un sistema de transporte muy eficiente dependiente del intercambio de sodio y calcio.

Varios estudios, tanto clínicos como experimentales, han mostrado una mortalidad reducida en pacientes con fallo cardiaco congestivo tratados con suplementos de taurina. Parece que la taurina participa en la regulación de la actividad de algunas proteínas del corazón, como la angiotensina II y el complejo de la piruvato deshidrogenasa.

3.4.2.3. Taurina e inmunidad

Los contenidos intracelulares de taurina son también muy elevados en las plaquetas y en los leucocitos (10-50 mM). La mayor concentración se encuentra en los neutrófilos. En estas células, la taurina da lugar a la formación de N-clorotaurina, por reacción con el ácido hipocloroso producido por el sistema de la mieloperoxidasa. La N-clorotaurina, aún muy reactiva, puede ser utilizada por los neutrófilos en la defensa del huésped frente a los microorganismos. Por otra parte, la taurina se clasifica a menudo como un antioxidante, ya que participa en la protección frente al daño celular provocado por la hipoxia e inhibe la apoptosis al evitar la formación de radicales libres de oxígeno. Desde un punto de vista químico, la taurina es un compuesto inerte, aunque es capaz de reaccionar con compuestos oxidantes como el ácido hipocloroso.

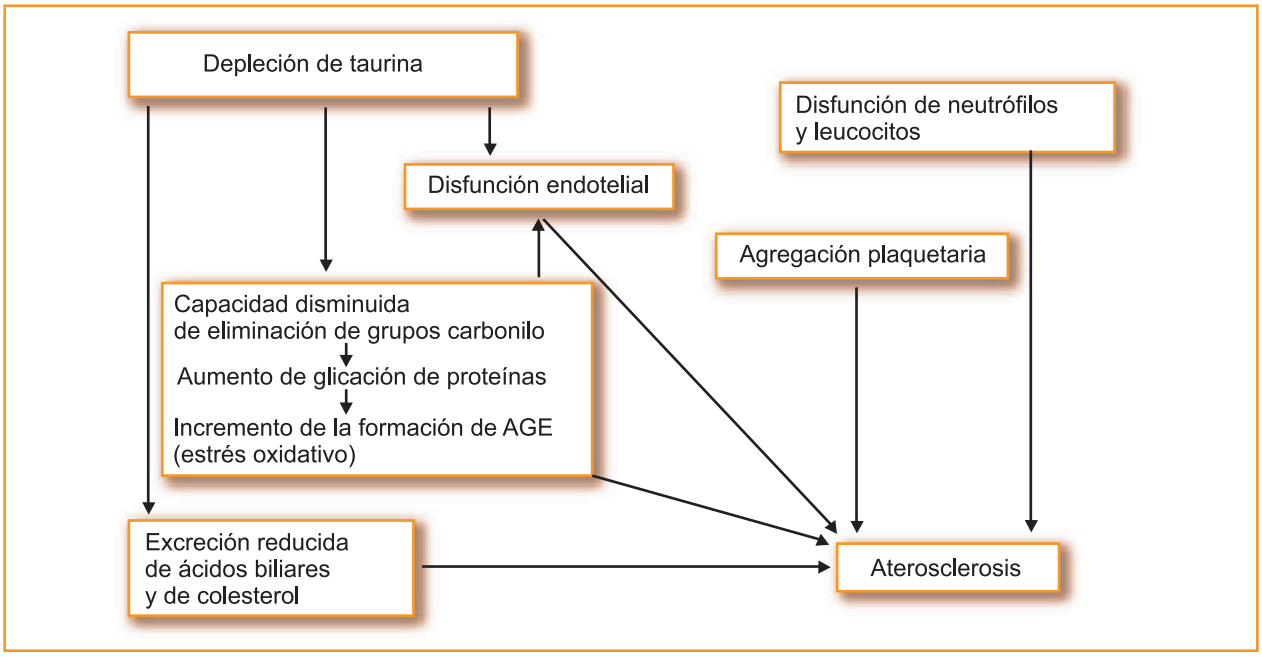


Figura 20. *Relación entre la depleción de taurina y el desarrollo de aterosclerosis.*

Sin embargo, la hipotaurina es un verdadero antioxidante; de hecho, cuando se oxida en presencia de oxígeno se convierte en taurina. No obstante, la taurina parece ser muy efectiva en la reacción con compuestos aldehídicos, por lo que aparenta tener una función de proteger a las proteínas intracelulares al reaccionar con compuestos carbonilo reactivos.

3.4.2.4. Taurina y diabetes

Se ha sugerido que la privación de taurina durante el desarrollo fetal puede dar lugar a la aparición de diabetes mellitus de tipo 2. Así, se ha demostrado que en el retraso del crecimiento intrauterino existe un actividad reducida del sistema de transporte de taurina, y que los recién nacidos prematuros pero de peso adecuado para la edad gestacional desarrollan diabetes de tipo 2 más frecuentemente. Por otra parte, la evaluación de las observaciones publicadas en relación con el papel de la taurina en la osmorregulación intracelular provee una explicación razonable para algunos de los cambios celulares y vasculares que acontecen en la diabetes, como la disfunción de las plaquetas, la retina, los nervios y el riñón, así como la alteración de la respuesta inmune. El estrés osmótico debido a los elevados niveles de glucosa en la diabetes provoca la acumulación de sorbitol en los tipos celulares donde la captación de glucosa no depende de la insulina y que tienen actividad aldosa reductasa. Así, la fluctuación en los niveles intracelulares de glucosa causa la depleción de varios osmolitos, como la taurina y el mioinositol, en algunos tipos celulares, tales como las plaquetas, los leucocitos y las células endoteliales. También se modifica el transporte de taurina entre las células gliales y las neuronas y los fotorreceptores retinianos. La **Figura 19** muestra un esquema de las consecuencias de la depleción de taurina sobre el endotelio y las funciones neural, retiniana y renal.

La depleción de taurina da lugar a una menor eliminación de grupos carbonilo reactivos, con lo que aumentan la glicación de las proteínas y la formación de productos avanzados de la glicación (AGE). Todas estas disfunciones celulares son la causa a largo plazo de las complicaciones de la diabetes en la retina, los nervios y los riñones. Además, la depleción de taurina ocasiona una composición alterada de la bilis, incrementando la cantidad de conjugados de glicina, menos eficientes en la eliminación de colesterol. Este proceso podría contribuir a la acumulación de colesterol corporal y el subsiguiente depósito en el sistema vascular. Ello, conjuntamente con la disfunción de plaquetas, células endoteliales y leucocitos, favorecería el desarrollo de aterosclerosis. La **Figura 20** ilustra la relación entre la depleción de taurina y el desarrollo de aterosclerosis.

4. Resumen

- Se consideran aminoácidos condicionalmente esenciales los que pueden sintetizarse en el organismo humano a partir de otros aminoácidos, pero cuya formación está limitada en determinadas circunstancias fisiológicas o patológicas (prematuridad, traumatismos, sepsis, etc.). El término "condicionalmente esencial", aplicado inicialmente a los aminoácidos, también se emplea para otros nutrientes, algunos de los cuales son derivados de aminoácidos.

- La arginina se puede sintetizar en el organismo, fundamentalmente en el hígado, como intermediario del ciclo de la urea. Por eso, una gran parte de la arginina que se forma es degradada a ornitina, y la arginina necesaria para otras funciones debe "escapar" del ciclo, lo que supone una importante limitación en condiciones de requerimientos acentuados. En estos casos (traumatismo digestivo, cirugía mayor, ulceraciones, isquemia, traslocación bacteriana, etc.) está justificada la utilización clínica de la arginina como suplemento nutricional.

- La cisteína y la glicina son dos aminoácidos con importantes funciones biológicas, que resultan condicionalmente esenciales para los recién nacidos. Asimismo, la prolina es un aminoácido semiesencial en las primeras etapas de vida posnatal.

- La glutamina es un aminoácido con propiedades únicas que se necesita en mayor cantidad de la que se sintetiza en condiciones de estrés metabólico, tales como la sepsis, el estrés quirúrgico o los politraumatismos.

- La tirosina se forma a partir de un aminoácido esencial, la fenilalanina, gracias a la actividad enzimática de la fenilalanina hidroxilasa. Esta conversión puede ser deficitaria en enfermedades hepáticas y fallo renal crónico. También en los recién nacidos, especialmente prematuros, puede existir una hiperfenilalaninemia transitoria por falta de madurez de la enzima fenilalanina hidroxilasa.

- La carnitina, la colina, las poliaminas y la taurina son derivados de aminoácidos considerados condicionalmente esenciales. La síntesis de carnitina puede ser insuficiente en diversos estados patológicos en adultos y en los recién nacidos prematuros. La colina se precisa en cantidades importantes durante el crecimiento y desarrollo; su deficiencia puede conducir a trastornos hepáticos, cardiovasculares y neurológicos. Las poliaminas contribuyen a la proliferación celular, lo que explica su necesidad aumentada en los procesos de reparación celular. En cuanto a la taurina, se considera necesaria en cantidades importantes durante el desarrollo del lactante; además, parece proteger de la enfermedad cardiovascular y de la diabetes, y favorece la respuesta inmune.

5. Bibliografía

Ball PA, Hardy G. Glutamine in Pediatrics: Where next? Nutrition 2002; 18: 451-4.
Revisión de la literatura científica en relación con la utilización de la glutamina en neonatología y pediatría.

Blusztajn JK. Choline, a vital amine. Science 1998; 281: 794-5.
Revisión excelentemente documentada sobre la esencialidad de la colina para los seres humanos.

Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000; 20: 2032-7.
Es una estupenda revisión sobre el papel de la dimetil-arginina asimétrica en la disfunción endotelial.

Fürst P, Kuhn KS. Amino-acid substrates in new bottles: Implications for Clinical Nutrition in the 21st century. Nutrition 2000; 16: 603-5.
Consideraciones generales y perspectivas futuras sobre la utilización de los aminoácidos semiesenciales en nutrición clínica.

García de Lorenzo A, Zarazaga A, García-Luna PP, González Huix F, López Martínez J, Miján A, *et al*. Clinical evidence for enteral nutritional support with glutamine: A systematic review. Nutrition 2003; 19: 805-11.
Revisión sistemática sobre la evidencia científica del aporte de glutamina por vía enteral en pacientes en diferentes condiciones médico-quirúrgicas.

Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Thiamine, Riboflavin, Niacin, Vitamin B_6, Folate, Vitamin B_{12}, Panthotenic Acid, Biotin and Choline, 1999: 390-420.
Revisión detallada de las vías metabólicas, las funciones biológicas y las fuentes dietéticas de colina, así como de los requerimientos dietéticos de esta amina vital.

Neu J, Shenoy V, Chakrabarti R. Glutamine nutrition and metabolism: Where do we go from here? FASEB J 1996: 829-37.
Revisión sobre el metabolismo y sobre los efectos biológicos de la complementación nutricional con glutamina, tanto en modelos animales como en humanos.

Nieves C, Langkamp-Henken B. Arginine and immunity: a unique perspective. Biomed Pharmacother 2002: 471-82.
Excelente revisión sobre el metabolismo y las funciones inmunomoduladoras de la arginina.

Suchner U, Heyland DK, Peter K. Immune-modulatory actions of arginine in the critically ill. Br J of Nutr 2002; 97 (Suppl 1): S121-S32.
Revisión sobre las acciones inmunomoduladoras de la arginina que incluye un estudio detallado de los mecanismos específicos.

Wu G, Meininger CJ, Knabe DA, Bazer FW, Rhoads JM. Arginine, nutrition in development, health and disease. Clin Nutr Metab Care 2000; 3: 59-66.
Revisión del papel de la arginina sobre la reproducción, el desarrollo neonatal, la función cardiovascular, la tumorogénesis, la curación de heridas, la enfermedad renal y las patologías gastrointestinales y hepáticas.

Young VR, Ajami AM. Glutamine: The emperor or his clothes? J Nutr 2001; 2449S-59S.
Artículo inicial de un suplemento completamente dedicado a revisar todos los aspectos relacionados con el metabolismo, las funciones biológicas y el papel de la glutamina en nutrición clínica.

Zeisel S. Choline: An essential nutrient for humans. Nutrition 2000; 16: 669-71.
Revisión actualizada sobre los estudios que documentan que la colina es un nutriente esencial para la especie humana.

6. Enlaces web

- www.thorne.com/pdf/journal/3-5/carnitine.pdf
- www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Abstract&list_uids=2080048
- nutrition.jbpub.com/discovering/study_ question_show.cfm?chapter=7&subsection=norma
- www.vanderbilt.edu/AnS/psychology/ health_psychology/amino.htm
- www.nutrition.org/cgi/content/full/130/7/1835S

1.16. Metabolismo de nucleótidos

Ángel Gil Hernández ■ Antonio Sánchez Pozo

Capítulo 1.16.

Metabolismo de nucleótidos

1. Introducción

2. Nomenclatura y estructura de nucleobases, nucleósidos y nucleótidos

3. Metabolismo de nucleótidos

3.1. Síntesis *de novo* de nucleótidos

3.1.1. Biosíntesis de ribosa y de fosforribosil pirofosfato

3.1.2. Biosíntesis de ribonucleótidos púricos

3.1.2.1. Síntesis de inosín monofosfato (IMP)

3.1.2.2. Síntesis de GMP y AMP

3.1.2.3. Síntesis de nucleósidos di y trifosfato de adenina y guanina

3.1.2.4. Utilización de los nucleótidos de la adenina en la biosíntesis de coenzimas

3.1.3. Biosíntesis de ribonucleótidos pirimidínicos

3.1.4. Biosíntesis de desoxirribonucleótidos

3.2. Vías de recuperación de nucleótidos a partir de bases y nucleósidos

3.3. Biosíntesis de nucleótidos especiales con función reguladora en el metabolismo

3.4. Catabolismo de nucleótidos

3.4.1. Catabolismo de nucleótidos púricos

3.4.2. Catabolismo de nucleótidos pirimidínicos

3.5. Regulación del metabolismo de los nucleótidos

3.5.1. Regulación de la biosíntesis de nucleótidos púricos

3.5.2. Regulación de la biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos

3.5.3. Regulación de la biosíntesis de desoxirribonucleótidos

3.6. Visión de conjunto del metabolismo de los nucleótidos púricos (aspectos fisiopatológicos)

3.7. Aspectos particulares del metabolismo de los nucleótidos

3.7.1. Función reguladora y participación en ciclos metabólicos

3.7.2. Receptores de nucleósidos y nucleótidos

4. Digestión, metabolismo y funciones de los nucleótidos de la dieta

4.1. Contenido en nucleótidos de los alimentos

4.2. Digestión y metabolismo de los nucleótidos de la dieta

4.2.1. Digestión

4.2.2. Absorción, transporte y destino metabólico

4.3. Funciones de los nucleótidos como nutrientes
4.3.1. Crecimiento y diferenciación celular
4.3.2. Metabolismo lipídico
4.3.3. Microbiota intestinal
4.3.4. Sistema inmunológico
4.3.4.1. Efectos de los nucleótidos sobre la proliferación, maduración y activación de los linfocitos
4.3.4.2. Nucleótidos y subpoblaciones linfocitarias
4.3.4.3. Modulación de la actividad fagocítica de los macrófagos por los nucleótidos de la dieta
4.3.4.4. Modulación por nucleótidos de la hipersensibilidad retardada y respuesta a injertos y tumores
4.3.4.5. Modulación de la producción de inmunoglobulinas por nucleótidos

5. Resumen

6. Bibliografía

7. Enlaces web

Objetivos

- Conocer la vía metabólica que conduce a la biosíntesis de inosín-5'-monofosfato y los precursores de los átomos del anillo purínico.
- Señalar los aspectos fundamentales de la biosíntesis de ribonucleótidos púricos y pirimidínicos.
- Conocer la implicación de los nucleótidos en la biosíntesis de coenzimas que contienen adenilato.
- Describir la formación de desoxirribonucleótidos a partir de ribonucleósidos-5'-difosfato.
- Conocer los mecanismos de recuperación de bases y nucleósidos con fines biosintéticos.
- Exponer las vías de formación de nucleótidos cíclicos.
- Comprender la regulación de la biosíntesis de nucleótidos.
- Señalar los aspectos generales del catabolismo de los nucleótidos.
- Identificar las causas de las principales alteraciones del metabolismo de los nucleótidos y en especial de las hiperuricemias.
- Conocer el contenido, así como las funciones biológicas de los nucleótidos de la dieta.

1. Introducción

Los nucleótidos son un conjunto de compuestos derivados de los anillos de la purina o de la pirimidina, conocidos como nucleobases o sencillamente "bases". Las nucleobases junto con el azúcar ribosa forman los denominados nucleósidos y éstos, al fosforilarse, los nucleótidos. Así, al referirse a los nucleótidos de adenina se consideran la adenina (base), la adenosina (nucleósido), el AMP, el ADP y el ATP (nucleótidos). Los nucleótidos también pueden contener desoxirribosa, por modificación durante la síntesis, como se verá más adelante.

Los nucleótidos son precursores de los ácidos nucleicos, intermediarios en la biosíntesis de muchos compuestos como el glucógeno, los fosfolípidos, los esfingolípidos y las glicoproteínas, e intermediarios energéticos como el ATP y el GTP. Asimismo, forman parte de coenzimas como NAD^+, $NADP^+$, FAD y coenzima A. Son también importantes reguladores metabólicos, como el AMP cíclico (AMPc) o el GMP cíclico (GMPc). Algunos de ellos participan en los mecanismos de transducción de señales celulares, como el GTP, el GDP y el AMPc, y en procesos específicos, como la diadenosina tetrafosfato (Ap4A) en el crecimiento celular. Por su implicación en numerosas vías metabólicas y procesos celulares, su estudio es imprescindible tanto en nutrición como en clínica.

Se conocen muchas alteraciones en el metabolismo de los nucleótidos, entre las cuales destaca la gota úrica, pero existen otras alteraciones de interés como el síndrome de Lesch-Nyhan, debido a una deficiencia de la enzima hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa, el síndrome de inmunodeficiencia combinado, debido al déficit de adenosina desaminasa, o el síndrome de inmunodeficiencia de linfocitos T, debido al déficit de la purín nucleótido fosforilasa. Por otra parte, el estudio de los nucleótidos es de interés para entender la utilización de derivados de los nucleótidos como terapia antitumoral. Ello si no se atiende a otras acciones particulares como las propiedades vasodilatadoras de la adenosina, etc.

Los nucleótidos forman parte de los alimentos y deben considerarse como nutrientes. Clásicamente se ha considerado que los nucleótidos y sus constituyentes, bases y nucleósidos, no se requieren como componentes de la dieta para satisfacer necesidades nutricionales específicas. Sin embargo, la falta de nucleótidos de la dieta puede ocasionar trastornos importantes en ciertas circunstancias. De hecho, durante las tres últimas décadas se han acumulado numerosas evidencias de que los nucleótidos de la dieta participan en el desarrollo del sistema inmune y son importantes para la proliferación y desarrollo tisular, especialmente para los tejidos con un rápido recambio, como la piel, la mucosa intestinal, las células de la médula ósea y los linfocitos.

En el presente Capítulo se consideran la nomenclatura y estructura de las nucleobases, los nucleósidos y los nucleótidos, se describen las vías de biosíntesis y degradación de los nucleótidos, así como su regulación, y se revisa el papel de los nucleótidos de la dieta tanto en situaciones fisiológicas como patológicas.

2. Nomenclatura y estructura de nucleobases, nucleósidos y nucleótidos

Los nucleótidos son ésteres fosfato de pentosas en los que una base nitrogenada se une al carbono 1 del resto de azúcar, denominado C1'. Las bases nitrogenadas son derivados de dos compuestos heterocíclicos denominados purina y pirimidina. Las bases pirimidínicas fundamentales son la citosina, la timina, presente en el DNA, y el uracilo, presente en el RNA. La adenina y la guanina son las purinas más frecuentes encontradas en los seres vivos. La xantina y la hipoxantina son también bases púricas derivadas de la degradación de la adenina y la guanina.

Los nucleósidos y los nucleótidos derivan de sustituciones en las estructuras de los anillos de las bases. Un nucleósido se forma a partir de una base nitrogenada unida a través de un enlace glicosídico a una pentosa. La pentosa puede ser ribosa o 2-desoxirribosa. Un nucleótido es un éster fosfato de un nucleósido. El grupo fosfato puede unirse al C-3' o al C-5' de una pentosa para formar su 3'-nucleótido o su 5'-nucleótido, respectivamente. El lugar más común de esterificación es el C-5' de la pentosa. Las letras A, G, I y X designan a los nucleósidos adenosina, guanosina, inosina y xantosina, derivados de las bases adenina, guanina, hipoxantina y xantina. Las letras C, T y U corresponden a los nucleósidos pirimidínicos citidina, timidina y uridina, derivados de las bases citosina, timina y uracilo. Si el nucleósido contiene 2'-desoxirribosa, hay que añadir un prefijo "d" en la nomenclatura. Las letras MP, DP o TP, añadidas a la letra que designa el nucleósido, indican los ésteres mono, di o trifosfato. Estos nucleótidos pueden denominarse como adenosina monofosfato, guanosina monofosfato, etc., o simplemente por sus iniciales AMP, GMP, UMP, IMP, CMP, UMP y dTMP. La **Tabla 1** contiene los nombres y abreviaturas utilizados para las bases, nucleósidos y nucleótidos más comunes.

Las estructuras químicas de las bases componentes de los nucleótidos aparecen reflejadas en la **Figura 1** y las estructuras de un ribonucleótido (AMP) y de un desoxirribonucleótido (dTMP) en la **Figura 2**.

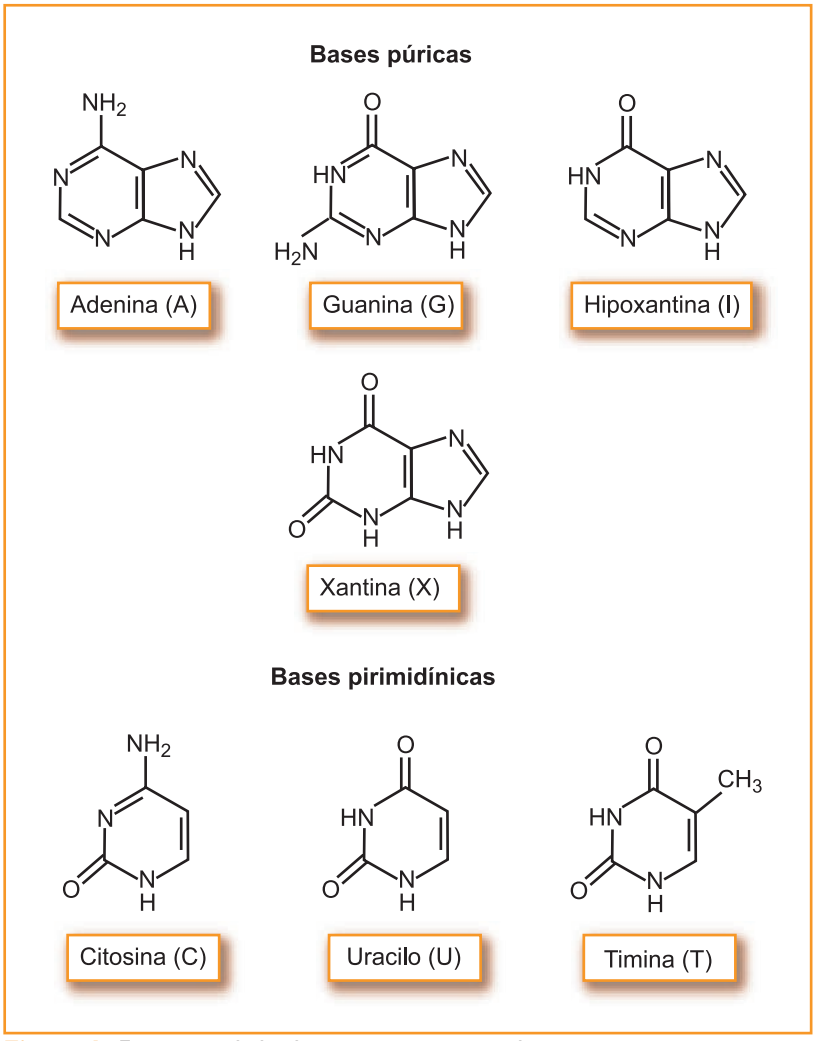


Figura 1. *Estructura de las bases púricas y pirimidínicas.*

3. Metabolismo de nucleótidos

En la **Figura 3** se muestra un esquema general del metabolismo de los nucleótidos. Como puede observarse los nucleótidos (ribonucleótidos y desoxirribonucleótidos) tienen varias procedencias: la síntesis desde aminoácidos y otros

Tabla 1. NOMENCLATURA DE NUCLEÓTIDOS

Nucleobase	Nucleósido	Nucleótido	Derivados
Adenina	Adenosina	AMP, ADP, ATP, AMPc	
Guanina	Guanosina	GMP, GDP, GTP, GMPc	
Citosina	Citidina	CMP, CDP, CTP	CDP-colina, etc.
Timina	Timidina	TMP, TDP, TTP	
Uracilo	Uridina	UMP, UDP, UTP	UDP-glucosa, etc.

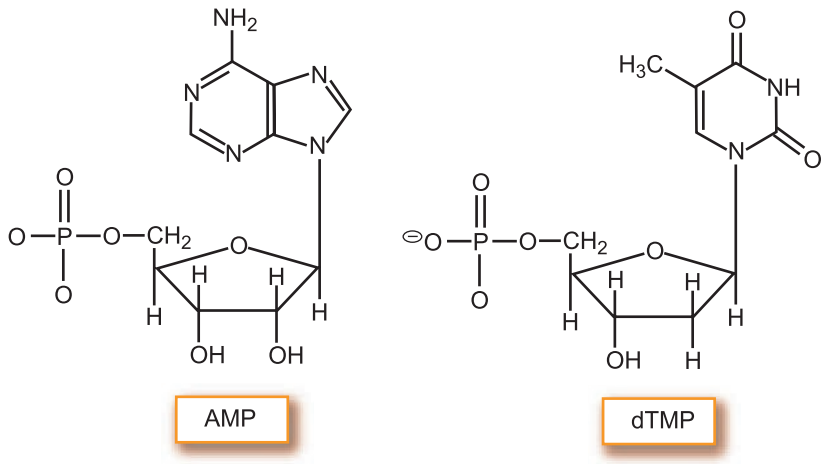


Figura 2. *Estructura de un ribonucleótido (AMP) y de un desoxirribonucleótido (dTMP).*

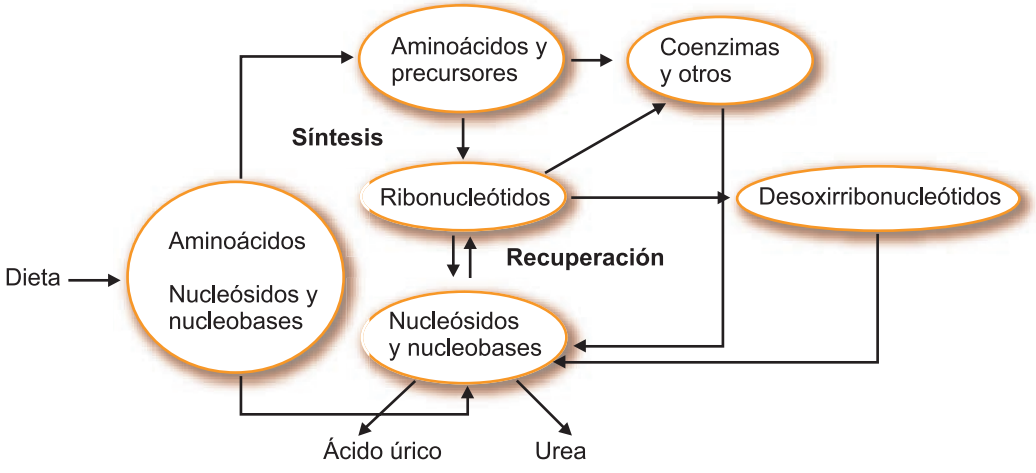


Figura 3. *Panorámica general del metabolismo de nucleótidos.*

precursores (síntesis *de novo*) y la recuperación desde nucleósidos y nucleobases. Estos últimos proceden tanto de la dieta, como de la degradación de ácidos nucleicos (DNA y RNA), nucleótidos libres y coenzimas.

La síntesis de nucleótidos es un proceso costoso en términos energéticos, por lo que la utilización de nucleótidos procedentes de la degradación de ácidos nucleicos o la recuperación de nucleótidos procedentes de la dieta supone un ahorro energético considerable. Por otra parte, la capacidad biosintética es limitada, por lo que en tejidos en rápido crecimiento se requiere un aporte exógeno para un desarrollo óptimo.

Los nucleótidos sintetizados o recuperados son utilizados para la formación de ácidos nucleicos, así como para la formación de coenzimas y otros derivados que intervienen en el metabolismo, en particular la síntesis de glucógeno y la de fosfolípidos, esfingolípidos y glicoproteínas. Como se ha indicado anteriormente, los nucleótidos también participan en los procesos biosintéticos como transferidores de energía. Algunos nucleótidos o sus correspondientes nucleósidos y nucleobases tienen un papel regulador, igual que algunos derivados como el AMPc o el GMPc.

Los nucleótidos no utilizados se degradan hasta ácido úrico (en el caso de los nucleótidos de purina) o hasta urea (en el caso de los nucleótidos de pirimidina). La formación de úrico es una de las consecuencias del excesivo consumo de nucleótidos que en las personas susceptibles puede originar la gota, por lo que el consumo de nucleótidos no goza de buena prensa.

3.1. Síntesis *de novo* de nucleótidos

Los productos de partida son la ribosa y los aminoácidos aspártico y glutamina. La síntesis de los nucleótidos púricos (AMP, GMP) y pirimidínicos (UMP, CMP, dTMP), aunque parte de los mismos precursores, se ensambla de forma diferente. Así, en el caso de los púricos primero se utiliza la ribosa y luego los aminoácidos, mientras que en el caso de los pirimidínicos es al contrario. Los procesos tienen lugar en el citoplasma celular, con la excepción de la formación de orótico, que tiene lugar en la mitocondria.

En ambos casos se requiere el fosforribosilpirofosfato (PRPP), siendo la disponibilidad de este un factor determinante de la biosíntesis junto con los precursores antes mencionados. Dado que para la síntesis se requiere ribosa y ésta procede de la glucosa, la disponibilidad de glucosa es determinante. Por otra parte, el fosfato inorgánico es un activador de la enzima, por lo que resulta importante, ya que el fosfato indica falta de ATP.

Tras la formación de los nucleótidos monofosfato, que sería el proceso genuino de biosíntesis, su paso a di y trifosfato se lleva a cabo por una serie de enzimas fosforilantes (kinasas) que utilizan el ATP generado en la oxidación mitocondrial. Por tanto, son muchas las posibles combinaciones en las que se transfiere el fosfato entre nucleótidos.

Las cantidades relativas de los nucleótidos tri, di y monofosfato se suelen mantener constantes en la célula. Los niveles de los distintos estados de fosforilación están relacionados con la energía total disponible. De hecho, se utiliza el cociente entre los nucleótidos ATP, ADP, AMP, para establecer la denominada "carga energética" de una célula, definida por Atkinson como:

$$Qe = (ATP + 1/2\,ADP)/(ATP + ADP + AMP)$$

Usualmente las células tienen una Qe cercana a 1, es decir, el contenido en ATP es muy superior al de ADP y AMP.

La formación de CTP sigue un camino peculiar; tras la síntesis de UMP, se convierte en UTP y éste en CTP. Este hecho tiene interés en nutrición. Así, una dieta que contenga uridina puede satisfacer las necesidades de UTP y CTP, sin que haga falta disponer de citidina. Igual ocurre con la inosina en relación con el ATP. De este modo, una dieta equilibrada en nucleótidos no requiere que estén todos los nucleótidos presentes.

La formación de desoxirribonucleótidos se lleva a cabo por la ribonucleótido reductasa. Todos los desoxirribonucleótidos se generan en su forma difosfato, que, como ya se ha comentado, puede pasar a la forma trifosfato por la acción de las enzimas fosforilantes. La excepción es la timina. La formación de dTTP requiere la transformación primero en dUMP y posterior conversión en dTMP.

A continuación, se describen con más detalle las etapas principales de la biosíntesis de nucleótidos

púricos y pirimidínicos, así como de la biosíntesis de desoxirribonucleótidos.

3.1.1. Biosíntesis de ribosa y de fosforribosil pirofosfato

La síntesis de ribosa tiene lugar como ribosa-5'-fosfato a partir de la glucosa-6-fosfato por la vía denominada de las pentosas fosfato. La ribosa-5'-fosfato sintetizada es utilizada para la formación de nucleótidos púricos y pirimidínicos y el exceso es convertido de nuevo a hexosa fosfato y gliceralaldehído, a través de una serie de reacciones entre diversos azúcares, constituyendo la segunda parte de la vía de las pentosas fosfato (*ver Capítulo 1.9*).

La formación de PRPP a partir de ribosa-5'-fosfato y ATP es catalizada por la ribosa-5'-fosfato pirofosfokinasa, también denominada PPPP sintetasa. Esta enzima es una kinasa inusual, ya que es el grupo pirofosforilo el que se transfiere preferentemente, en lugar del grupo fosforilo. La actividad de esta enzima, que ocupa una posición clave en diversas vías biosintéticas, está regulada por una serie de metabolitos. El fosfato inorgánico es un activador y los iones de magnesio se comportan como cofactor y activador de la enzima. Los inhibidores de esta enzima son ADP y 2-3 bisfosfoglicerato, que compiten con la ribosa-5'-fosfato; el AMP y GMP se comportan como inhibidores de tipo no competitivo. La concentración de todos estos compuestos, así como la cantidad relativa de los sustratos, determinan la actividad de la kinasa. De forma particular, los nucleótidos detienen la síntesis de PRPP cuando los depósitos energéticos de la célula son bajos.

3.1.2. Biosíntesis de ribonucleótidos púricos

Las reacciones que ocurren en la biosíntesis *de novo* de nucleótidos púricos fueron identificadas hace aproximadamente cinco décadas, utilizando precursores del anillo purínico marcados y determinando posteriormente la incorporación de los átomos marcados en el anillo del ácido úrico, compuesto oxidado de las bases púricas que puede aislarse fácilmente en forma cristalizada. La degradación química del ácido úrico revela el origen de los átomos del anillo purínico, tal y como se refleja en la **Figura 4**.

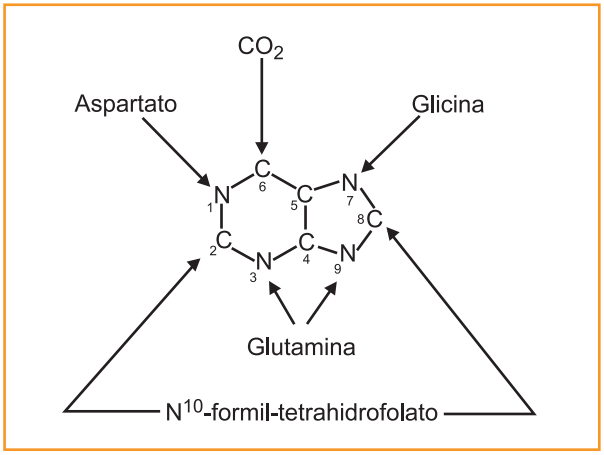


Figura 4. *Origen de los átomos del anillo púrico.*

3.1.2.1. Síntesis de inosín monofosfato (IMP)

La biosíntesis del IMP a partir de PRPP tiene lugar a través de diez reacciones químicas, que se muestran de forma esquemática en la **Figura 5**. En esta serie de reacciones, es interesante destacar que la primera reacción está catalizada por una glutamina amidotransferasa no dependiente de ATP, formándose fosforribosilamina. En la segunda reacción, una molécula de glicina se transfiere con ayuda del ATP al nitrógeno de la fosforribosilamina. Este proceso es seguido por una reacción catalizada por una transformilasa en la cual un grupo formilo se transfiere desde el N-10-formil-tetrahidrofolato hasta el anillo de la purina creciente. La siguiente reacción está catalizada por una glutamina amidotransferasa dependiente del ATP. En la reacción siguiente el ATP proporciona energía para el cierre de la porción imidazólica del anillo de purina. A continuación ocurre una carboxilación reversible que no requiere biotina. Las reacciones 7ª y 8ª ocurren por transferencia de un nitrógeno desde el aspartato por un mecanismo idéntico al que ocurre en la conversión de citrulina a arginina en el ciclo de la urea (*ver Capítulo 1.2*). La reacción 9ª es otra reacción de transformilación en la cual se transfiere un fragmento monocarbonado a partir del N-10-formiltetrahidrofolato. Finalmente, una reacción de condensación interna da lugar al primer compuesto nucleotídico purínico, el ácido inosínico (IMP).

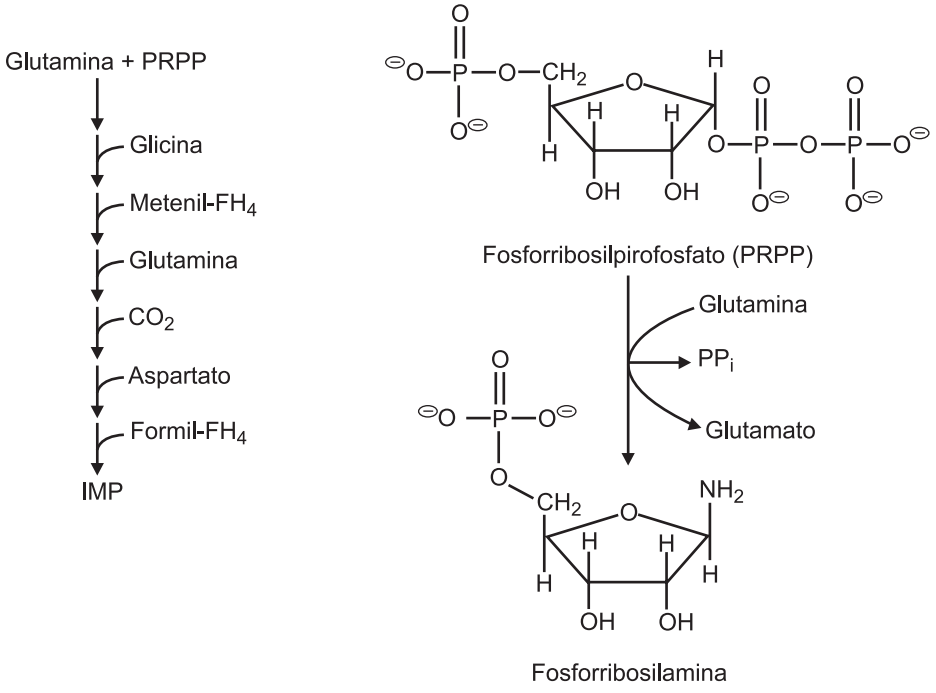


Figura 5. *Esquema de la biosíntesis de IMP y detalle de la primera reacción de la vía.*

3.1.2.2. Síntesis de GMP y AMP

La **Figura 6** muestra un esquema de la biosíntesis de GMP y AMP.

El IMP no se acumula en la célula sino que se convierte a AMP, GMP y los correspondientes nucleósidos difosfato y trifosfato. Los dos pasos en la síntesis de AMP son reacciones típicas por las cuales se introduce un grupo amino derivado del aspartato. El grupo hidroxilo del IMP en forma ceto es desplazado por el grupo amino del aspartato para dar adenilo-succinato, y este último es hidrolizado mediante la adenilo-succinato liasa para generar fumarato y AMP. En la condensación del aspartato con el IMP se produce la hidrólisis de GTP hasta GDP, la cual provee la energía necesaria para el transcurso de la reacción.

La conversión de IMP hasta GMP también tiene lugar mediante dos reacciones, una primera de oxidación del IMP hasta xantosina-5'-fosfato (XMP) y en segundo lugar, la transferencia de un grupo amido desde la glutamina al carbono 2 del anillo de la xantina, generándose GMP. La segunda reacción implica la hidrólisis de ATP hasta AMP y pirofosfato inorgánico, el cual es rápidamente hidrolizado hasta fosfato por la pirofosfatasa inorgánica, presente en la mayor parte de las células, con lo cual se desplaza el equilibrio hacia la formación de GMP.

3.1.2.3. Síntesis de nucleósidos di y trifosfato de adenina y guanina

Los nucleótidos metabólicamente activos son fundamentalmente los nucleósidos trifosfato. El GMP y el AMP son convertidos a sus nucleósidos trifosfato a través de reacciones de fosforilación sucesiva. La conversión a nucleósidos difosfato implica la presencia de kinasas dependientes de ATP. La fosforilación de ADP hasta ATP tiene lugar a través de una fosforilación a nivel de sustrato o a través de la fosforilación oxidativa. El ATP puede formarse también a partir de ADP por acción de la adenilato kinasa, actuando en sentido contrario a la formación de ADP a partir de AMP.

El ATP es la sustancia responsable de dar el grupo fosfato para la conversión de GDP y la mayor parte de los nucleósidos difosfato hasta el correspondiente trifosfato a través de la acción de la nucleósido difosfato kinasa (NDP kinasa). Esta enzima es

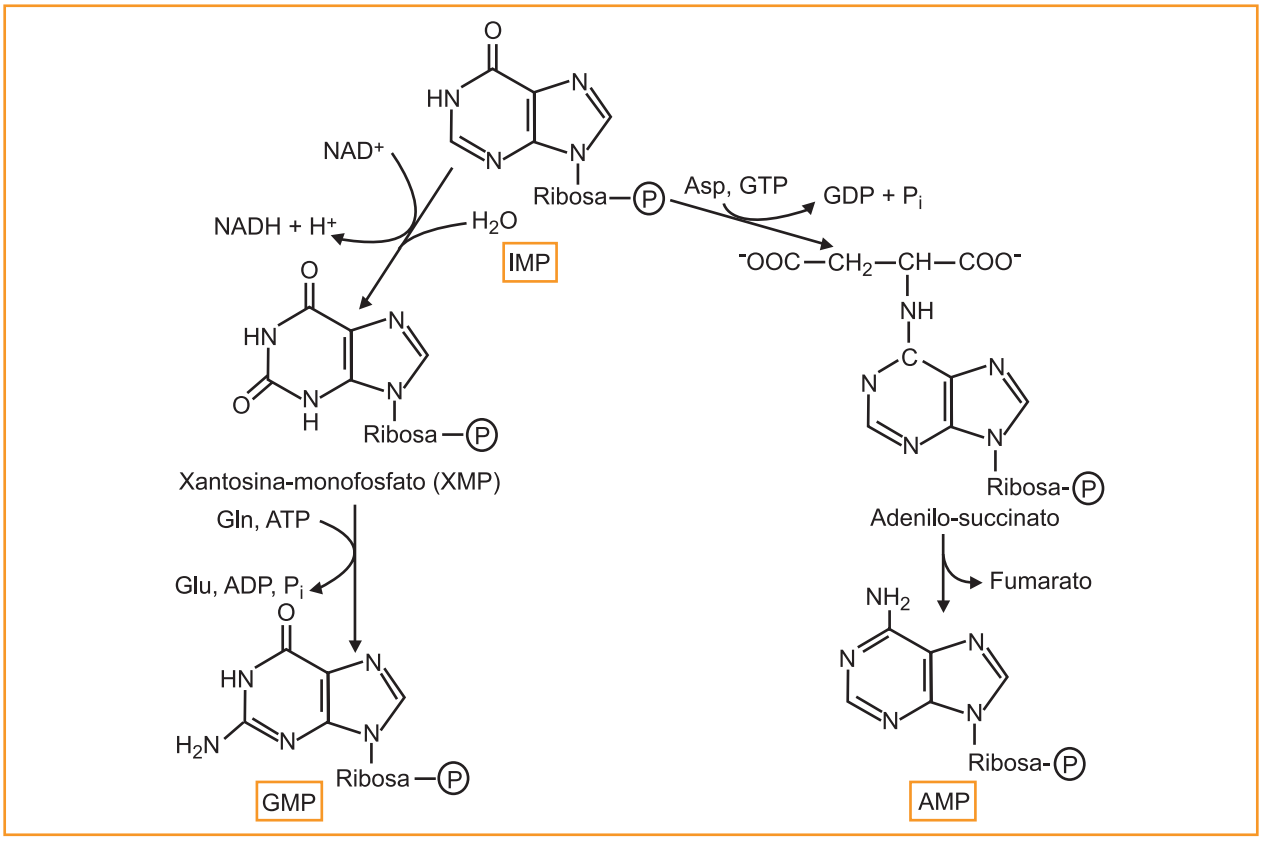


Figura 6. *Biosíntesis de GMP y AMP.*

muy activa pero no es específica en relación, tanto al agente donante de fosfato como al aceptor.

3.1.2.4. Utilización de los nucleótidos de la adenina en la biosíntesis de coenzimas

Una función metabólica importante de los nucleótidos purínicos es la síntesis de coenzimas, fundamentalmente de aquellos que contienen un resto de adenilato. Éstos incluyen los flavín nucleótidos, los nucleótidos de la nicotinamida y el coenzima A.

3.1.3. Biosíntesis de ribonucleótidos pirimidínicos

La biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos es más simple que la de los nucleótidos purínicos, reflejando la estructura más simple de la base. Al contrario de la vía biosintética de los nucleótidos purínicos, en la biosíntesis del anillo pirimidínico, éste es construido antes de la incorporación de la ribosa-5'-fosfato para formar el nucleótido. El primer mononucleótido sintetizado es el orotidín-5'-monofosfato (OMP) y, a partir de este compuesto, la vía biosintética conduce a los nucleótidos del uracilo, citosina y timina. El OMP ocupa de este modo un papel central en la biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos, algo análogo a la posición del IMP en la biosíntesis de los nucleótidos púricos. Como el IMP, el OMP se encuentra exclusivamente en las células y no es un constituyente de los ácidos nucleicos.

La **Figura 7** muestra la síntesis de UMP. La vía biosintética comienza con la síntesis de carbamilfosfato catalizado por la carbamilfosfato sintetasa (CPS-II) a partir de glutamina y bicarbonato. Posteriormente, el carbamilfosfato reacciona con el aspartato para formar carbamil-aspartato, reacción catalizada por la aspartato transcarbamilasa. En el tercer paso, el anillo de pirimidina se cierra en una reacción catalizada por la dihidroorotasa con formación de L-dihidroorótico. El dihidroorotato es oxidado hasta orotato por una flavoproteína, la

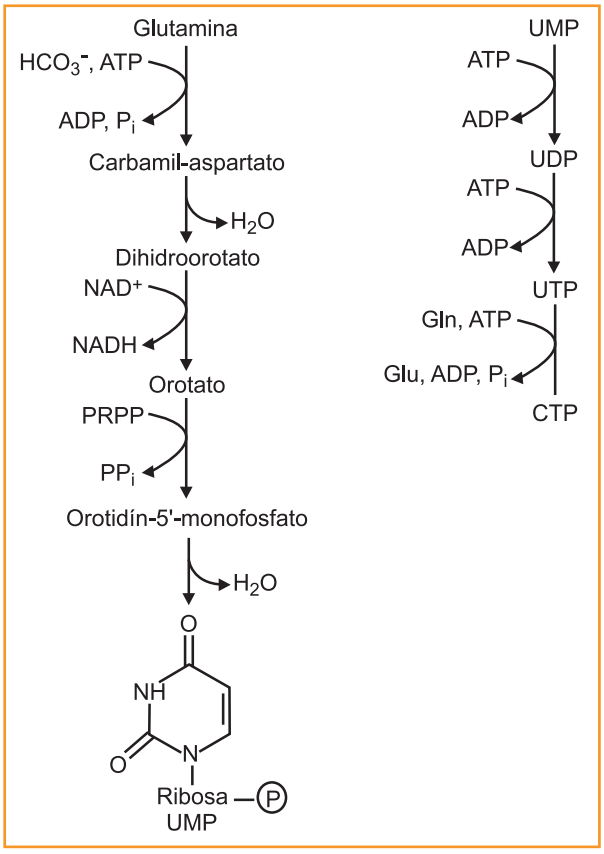


Figura 7. *Biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos.*

dihidroorotato deshidrogenasa. En los eucariotas, ésta es una lipoproteína asociada a la membrana interna de la mitocondria. En los dos pasos finales de la vía biosintética, la orotato fosforribosil transferasa transfiere el PRPP al orotato, dando lugar al primer nucleótido pirimidínico OMP, el cual se convierte en UMP por la acción de una descarboxilasa específica.

Existe una enfermedad genética en los niños denominada orótico aciduria caracterizada por un crecimiento anormal, anemia megaloblástica y excreción de grandes cantidades de orotato en la orina. Esta enfermedad se asocia a bajas actividades de orotidín fosfato descarboxilasa y de orotato fosforribosil transferasa. Cuando a estos niños se les administra por vía oral uridina, la anemia mejora y la excreción de orotato disminuye. La mejora se cree que es debida a la fosforilación de la uridina administrada hasta UMP, el cual es posteriormente convertido a otros nucleótidos pirimidínicos, permitiendo de esta forma la síntesis de ácidos nucleicos y de proteínas. Además, las concentraciones intracelulares de pirimidín nucleótidos aumentan, lo cual se traduce en una inhibición de la carbamilfosfato sintetasa, como más adelante se comentará.

La síntesis de CTP y UTP tiene lugar a partir de UMP. El UMP es fosforilado hasta generar UTP y el CTP se forma por reacción del UTP con glutamina en una reacción dirigida por la hidrólisis concomitante de ATP hasta ADP y fosfato inorgánico catalizada por la CTP sintetasa.

3.1.4. Biosíntesis de desoxirribonucleótidos

La mayor parte de las células contienen del orden de cinco a diez veces más RNA que DNA. Por tanto, la mayor parte del carbono que fluye hacia la síntesis de nucleótidos lo hace en el sentido de contribuir al aumento del *pool* de los ribonucleósidos trifosfato. Sin embargo, la fracción relativamente pequeña de nucleótidos que se dirige a la síntesis de desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTP) es de una importancia vital para las células. Los dNTP se utilizan casi exclusivamente en la biosíntesis de DNA; consiguientemente, existen unas relaciones reguladoras estrechas entre la síntesis de DNA y el metabolismo de los dNTP.

Teniendo en cuenta que el DNA difiere químicamente del RNA en la naturaleza de la pentosa y en la identidad de una de las bases pirimidínicas, en la biosíntesis de desoxirribonucleótidos se considerarán dos procesos específicos: la conversión de ribosa a desoxirribosa y la conversión de uracilo a timina. Ambos procesos tienen lugar en el estado de nucleótidos y son de gran interés, tanto bajo el punto de vista mecanístico, ya que suponen vías metabólicas objetivo para la quimioterapia del cáncer y de enfermedades infecciosas, como bajo el punto de vista de la regulación.

La reducción de los ribonucleótidos a desoxirribonucleótidos implica el reemplazamiento del grupo 2-hidroxilo de la pentosa por un ión hidrógeno con retención de la configuración del azúcar. Los cuatro ribonucleósidos difosfato conocidos se reducen por la misma enzima: la ribonucleósido difosfato reductasa o rNDP reductasa. Esta enzima es un tetrámero que contiene varios residuos catalíticos en los que participa el hierro. Los electrones para la reducción de los ribonucleótidos

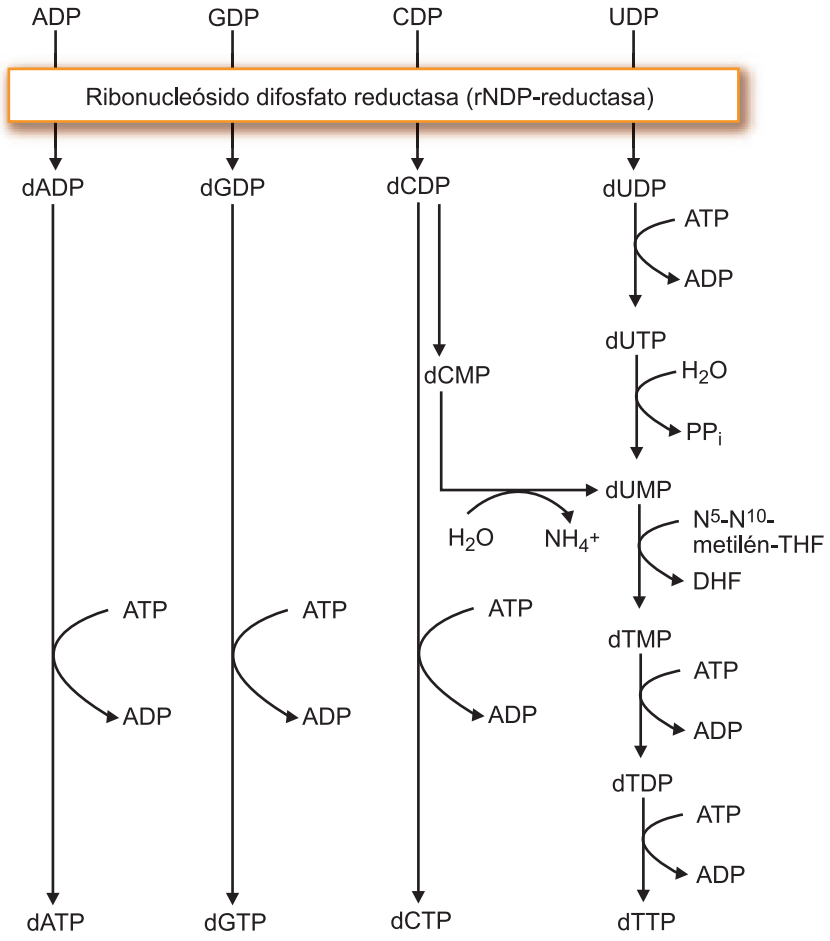


Figura 8. *Biosíntesis de desoxirribonucleótidos.*

proceden finalmente del NADPH, pero son lanzados hasta la rNDP reductasa por un coenzima inusual de naturaleza proteica. Existen dos proteínas donantes de electrones. La primera de ellas es la tiorredoxina que es reducida por el NADPH a través de una enzima flavoproteica, la tiorredoxina reductasa. La segunda, denominada glutarredoxina, es asimismo reducida por el NADPH a través de la NADPH reductasa dependiente de glutatión.

Una vez formados tres de los difosfatos dADP, dGDP Y dCDP, éstos se convierten directamente en los correspondientes trifosfatos a través de la nucleósido difosfokinasa. La biosíntesis de dTTP tiene lugar parcialmente a partir del dUDP producido a través de la vía de la reductasa y en parte a partir de desoxicitidín nucleótidos. La vía biosintética *de novo* de desoxirribonucleótidos aparece reflejada en la **Figura 8**.

Existen dos vías para la síntesis *de novo* de desoxiuridín monofosfato (dUMP), el sustrato para la síntesis de nucleótidos de la timina. En la primera vía, el dUDP se fosforila hasta dUTP y posteriormente éste es hidrolizado por una difosfohidrolasa muy activa, denominada dUDP-asa. La razón aparente de este proceso derrochador de energía, ya que el dTMP se fosforila de nuevo a dTTP, es que las células deben minimizar su concentración de dUTP para impedir la incorporación de uracilo al DNA. En la segunda vía, el dCDP es desfosforilado hasta dCMP, el cual sufre, posteriormente, una desaminación hasta dUMP por una aminohidrolasa, denominada dCMP desaminasa. Esta última enzima

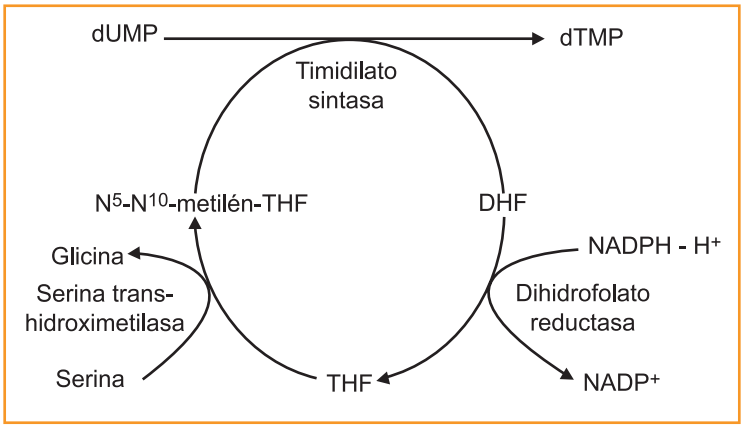


Figura 9. *Biosíntesis de dTMP.*

representa un punto de ramificación para la síntesis de nucleótidos de desoxirribonucleótidos pirimidínicos; requiere dCTP como activador alostérico y es inhibida por dTTP.

El dUMP es utilizado como sustrato para la formación de timidina monofosfato (dTMP), paso catalizado por la timidilato sintasa. El donante del fragmento monocarbonado es el N^5-N^{10}-metilentetrahidrofolato, el cual, en esta reacción inusual, sirve también como cofactor redox para dar lugar a dihidrofolato **(Figura 9)**. El cofactor debe de ser de nuevo reducido por la dihidrofolato reductasa y adquirir un grupo metilénico a través de la vía de la serintranshidroximetilasa (*ver Capítulos 1.14 y 1.22*).

3.2. Vías de recuperación de nucleótidos a partir de bases y nucleósidos

Además de las rutas biosintéticas de nucleótidos *de novo* ya descritas, existen otras enzimas ampliamente distribuidas en los tejidos de los mamíferos que catalizan la síntesis de mononucleótidos a partir de bases púricas y pirimidínicas y a partir de nucleósidos. En la **Figura 10** se muestra un esquema de la vía de recuperación de nucleósidos y nucleobases.

La recuperación de nucleósidos y nucleobases es una vía importante de obtención de nucleótidos, presumiblemente, la que ocurre en condiciones normales, teniendo en cuenta el ahorro energético que supone. De hecho, hay evidencia de que la síntesis *de novo* sólo se pone en marcha cuando escasean los nucleótidos recuperables procedentes de la degradación de los ácidos nucleicos o de la dieta. La puesta en marcha de la síntesis requiere, en cualquier caso, un tiempo necesario para la aparición de las enzimas. Durante ese tiempo, ya que no existen almacenes de nucleótidos en ningún lugar de la célula, se produce la degradación de los ácidos nucleicos que componen los ribosomas y ello supone una desactivación de todos los procesos de biosíntesis.

En general, los nucleótidos monofosfato y los nucleósidos son interconvertibles. Igualmente se pueden interconvertir algunos nucleósidos y nucleobases. Parece claro que los nucleósidos son fácilmente convertidos en nucleótidos. Como se verá más adelante, los nucleósidos son la forma en que se absorben los nucleótidos de la dieta y su transformación en nucleótidos es muy eficaz. Las nucleobases de purina son recuperadas, bien transformándose en nucleósidos o bien en nucleótidos. No ocurre así con las pirimidinas, al menos en humanos, en donde se recuperan únicamente los nucleósidos.

La síntesis de purinas y pirimidinas *de novo* es energéticamente costosa; se necesitan un mínimo de seis moles de ATP por cada nucleótido purínico formado y cinco moles de ATP por cada nucleótido pirimidínico. Sin embargo, la reutilización de nucleósidos, por ejemplo, necesita solamente un mol de ATP.

Las fosforribosil transferasas catalizan reacciones del siguiente tipo:

Base + PRPP → ribonucleósido-5'-fosfato + PP_i

El equilibrio de esta reacción favorece la síntesis de nucleótidos, ya que el pirofosfato inorgánico liberado se hidroliza rápidamente por las pirofosfatasas; el acoplamiento de estas reacciones da lugar a que la síntesis de nucleótidos sea en la práctica irreversible.

En los mamíferos existen dos fosforribosil transferasas que convierten las bases púricas a nucleótidos; estas enzimas están presentes en muchos órganos. La primera, denominada adenina fosforribosil transferasa (APRT), cataliza la formación de AMP a partir de adenina. La segunda, denominada hipoxantina-guanina fosforribosil transfera-

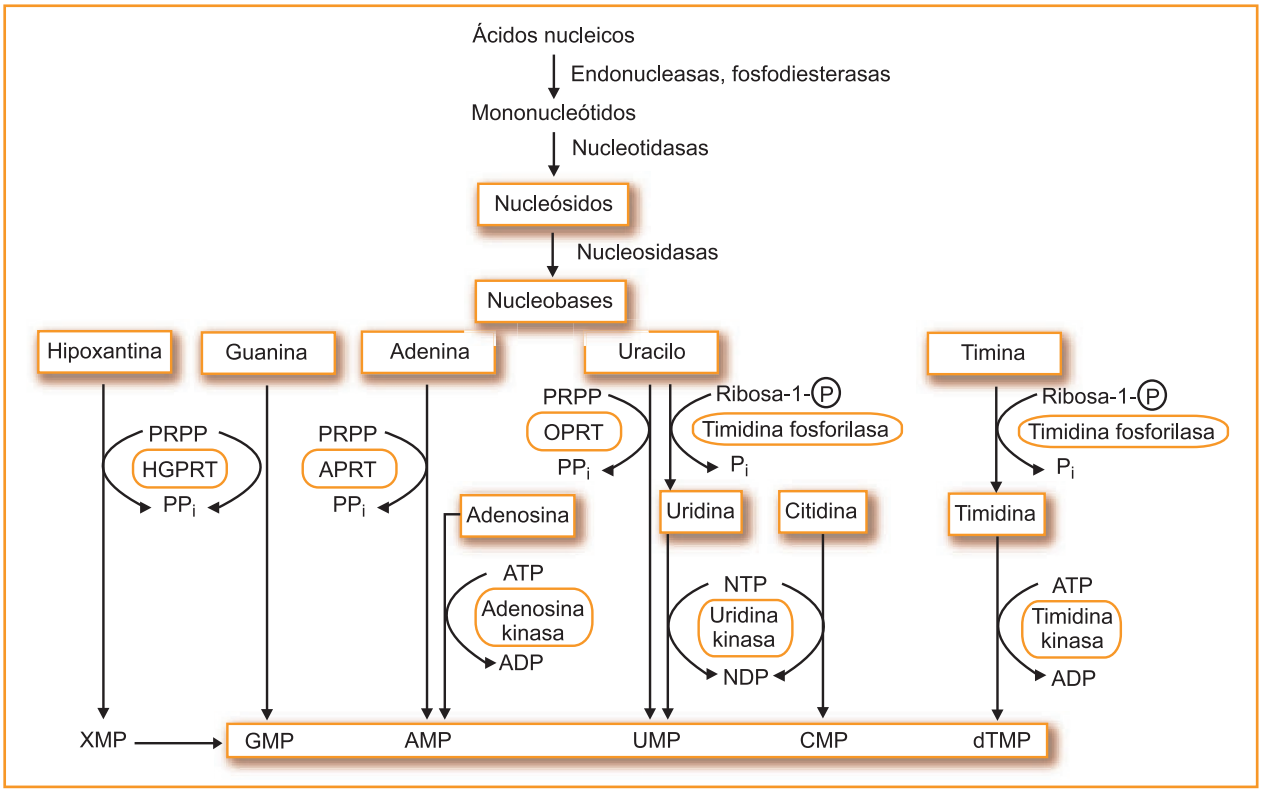


Figura 10. *Vía de recuperación de bases y nucleósidos.*

sa (HGPRT), cataliza la conversión de hipoxantina hasta IMP y de guanina hasta GMP, y es probablemente la enzima que convierte también xantina hasta XMP.

La recuperación de nucleótidos es una función tisular que parece necesaria, ya que el recambio de algunos tipos de RNA mensajero es muy rápido y la maduración de células de recambio rápido, como, por ejemplo, enterocitos o linfocitos, está acompañada de una considerable pérdida de ácidos nucleicos. Los resultados obtenidos en sujetos que tienen ausencia congénita de HGPRT o en cultivos de células, indican que la mayoría de las purinas formadas por degradación de los ácidos nucleicos se utilizan para la resíntesis de nucleótidos y ácidos nucleicos. Esta elevada recuperación es posible a causa de la distribución restringida de las enzimas catabólicas que actúan sobre las purinas libres en los tejidos de los animales superiores.

La HGPRT probablemente también funciona para convertir hasta nucleótidos la hipoxantina y la guanina liberadas en la circulación por la degradación intestinal de los ácidos nucleicos de la dieta. Asimismo, la hipoxantina y la xantina parece que son las bases púricas mayoritarias producidas y liberadas por las células, mientras que la liberación de adenina es escasa o no existe. Así, la APRT no parece desempeñar un papel significativo en la recuperación de nucleótidos. Esta enzima quizá sirve únicamente para utilizar las pequeñas cantidades de adenina que se producen durante la digestión intestinal de ácidos nucleicos o en el metabolismo de la 5'-desoxi-5'-metiladenosina, un subproducto de la síntesis de poliaminas (*ver Capítulo 1.15*).

Además del papel anteriormente descrito en la recuperación de bases púricas, la HGPRT, probablemente, es también importante para la transferencia de purinas desde el hígado hasta los tejidos extrahepáticos. La biosíntesis de nucleótidos purínicos es especialmente activa en el hígado y en las células de otros tejidos de recambio rápido tales como los enterocitos, los eritrocitos, las células de la medula ósea y los leucocitos, los cuales tienen una baja capacidad para la síntesis de purinas *de novo*. Estas células cubren sus necesidades de nucleótidos a través de la captación de hipoxantina y xantina presentes en la sangre. Parece que los niveles sanguíneos de xantina e hipoxantina, normalmen-

te alrededor de 0,04 mM, se mantienen por liberación desde el hígado. Algunas evidencias sugieren que las bases liberadas por el hígado son captadas por las células sanguíneas y se convierten en purín nucleótidos, que posteriormente son liberados y reutilizados por los tejidos periféricos. Los factores que regulan la liberación de estos nucleótidos son prácticamente desconocidos, si bien la captación de bases púricas por los tejidos extrahepáticos parece estar ligada a la actividad de las purín fosforribosil transferasas y de un complejo sistema de transportadores de nucleósidos (*ver apartado 2.2.2*).

La importancia de las fosforribosil transferasas de purinas en el metabolismo de los nucleótidos en el ser humano se demostró por el descubrimiento de una alteración neurológica de los niños, debida a la pérdida congénita de HGPRT (síndrome de Lesch-Nyhan). La alteración se caracteriza por un comportamiento agresivo, retraso mental y automutilación. El metabolismo de las purinas se altera profundamente, con un aumento de la biosíntesis *de novo* de nucleótidos purínicos (200 veces superior a la tasa normal), sobreproducción de ácido úrico (6 veces superior a la producción normal) y niveles elevados de ácido úrico en sangre. El aumento de la biosíntesis de nucleótidos purínicos probablemente se debe a varios factores. La menor utilización de PRPP por la HGPRT da lugar a una mayor concentración intracelular de sustrato disponible para la PRPP amidotransferasa. Al mismo tiempo, los niveles disminuidos de nucleótidos intracelulares contribuirían a incrementar el nivel de PRPP, desregulando la actividad de la ribosa-5'-fosfato pirofosfokinasa.

Aunque los nucleósidos de la purina son intermediarios en el catabolismo de los nucleótidos y ácidos nucleicos, no se acumulan y están normalmente presentes en la sangre y en los tejidos en cantidades pequeñas. No obstante, las células de la mayor parte de los vertebrados contienen kinasas capaces de convertir los nucleósidos de purinas en nucleótidos. Una enzima típica de este tipo es la adenosina kinasa, la cual cataliza la reacción siguiente:

Adenosina + ATP ↔ AMP + ADP

Las nucleósido kinasas no han sido estudiadas excesivamente y su especificidad y función en los diferentes tejidos y órganos es incierta. Su función fisiológica puede prevenir la acumulación de nucleósidos, algunos de los cuales desempeñan funciones hormonales específicas, como es el caso de la adenosina.

Las bases pirimidínicas son relativamente mal utilizadas por las células de los mamíferos; sin embargo, los nucleósidos pirimidínicos, especialmente la uridina, son captados rápidamente por numerosos tejidos. Existe una orotato fosforribosil transferasa capaz de aceptar uracilo como sustrato. Una ruta alternativa para la conversión de uracilo en UMP estriba en las reacciones sucesivas catalizadas por la uridín fosforilasa y la uridina kinasa, respectivamente:

Uracilo + ribosa-1-fosfato ↔ uridina + P_i

Uridina + ATP ↔ UMP + ADP

Estudios realizados en células humanas procedentes de cáncer de mama y en células de hepatoma de rata han mostrado que la biosíntesis *de novo* se reduce sustancialmente cuando se suministra uridina exógena. Aunque se ha estimado que la síntesis de nucleótidos pirimidínicos es aproximadamente igual que los requerimientos diarios de purinas (4-16 mmol/día), es posible suministrar la mayor parte de los requerimientos de pirimidinas a través de la vía de recuperación, tal y como ocurre en el tratamiento de la aciduria orótica hereditaria en la que el suministro dietético de uridina permite controlar la enfermedad, como se ha comentado anteriormente.

La uridína kinasa de mamíferos también acepta la desoxiuridina como sustrato; sin embargo, la timidina es convertida muy débilmente, y otros nucleósidos no son sustratos de la enzima. La actividad de la uridina kinasa está presente en una amplia variedad de células animales, especialmente en aquellas células que muestran una elevada tasa de recambio. La citidina es el otro nucleósido fisiológico que actúa como sustrato para la uridina kinasa. Como donantes del grupo fosforilo, además del ATP, pueden actuar una amplia variedad de nucleósidos trifosfato **(Figura 10)**.

De entre las varias desoxirribonucleósido kinasas existentes, una merece especial mención: es la timidina kinasa (TK). Esta enzima se inhibe alostéricamente por dTTP. La actividad de la timidina kina-

sa en una célula determinada está en relación con el estado proliferativo de dicha célula. Durante el ciclo celular, la actividad de la TK aumenta de forma importante cuando la célula entra en la fase S y, en general, las células con rápida división tienen elevados niveles de esta enzima. Ésta es la razón por la que la incorporación de timidina marcada al DNA se utiliza ampliamente en investigación para evaluar la proliferación celular.

Otra enzima interesante es la desoxicitidina kinasa, que es inhibida por retroalimentación por el dCTP. La actividad de la desoxicitidina kinasa es relativamente constante a través del ciclo celular, al contrario de lo que ocurre con la TK.

Los defectos en las enzimas implicadas en la recuperación de bases y nucleósidos originan serios trastornos. Particular interés tiene el defecto en la recuperación de hipoxantina y guanina. Así, el defecto en purín-nucleósido fosforilasa y el déficit en HGPRT originan trastornos neurológicos graves. En especial la segunda, causante del síndrome de Lesch-Nyhan, como ya se ha comentado. La acumulación de nucleósidos y nucleobases probablemente genera derivados tóxicos para las neuronas de los ganglios basales. Se han podido demostrar efectos tóxicos en el caso de la deficiencia de adenosina desaminasa, un trastorno que origina inmunodeficiencia debido al efecto tóxico de la desoxiadenosina que se acumula.

3.3. Biosíntesis de nucleótidos especiales con función reguladora en el metabolismo

Además de la función que algunos nucleótidos poseen en la transferencia de energía y como coenzimas, existe un cierto número de nucleótidos y oligonucleótidos que desempeñan una función vital en la regulación de muchos aspectos del metabolismo en todos los tipos celulares. En esta sección se describe brevemente la síntesis y la función de algunos de estos nucleótidos.

El **AMPc** (adenosina 3', 5'-monofosfato cíclico) es una molécula reguladora que se encuentra en la mayor parte de las células donde se llevan a cabo procesos de control metabólico, tanto en los organismos procarióticos como en los organismos eucarióticos. Su formación a partir de ATP está catalizada por la enzima adenilato ciclasa, denominada también adenilciclasa. En las células superiores, esta enzima está ligada a la membrana citoplasmática y se estimula por un amplio número de hormonas. El AMPc está considerado como un "segundo mensajero" en el sentido de que transfiere el mensaje llevado por el primer mensajero (hormonas, factores de crecimiento, citokinas, etc,). El efecto del AMPc en el metabolismo de los eucariotas está mediado a través de la activación de proteínas kinasas (*ver Capítulo 1.5*).

El **GMPc** (guanosina 3', 5'-monofosfato cíclico) se aisló de la orina en 1963 y actualmente se conoce que está ampliamente distribuido en la naturaleza. La guanilato ciclasa cataliza la reacción de formación del GMPc a partir de GTP. Esta enzima es predominantemente soluble en algunos tejidos tales como el hígado y las plaquetas, mientras que es particulada en otros, como la mucosa intestinal y los fibroblastos. Aunque las hormonas alteran los niveles de GMPc, los mecanismos y significación de estas alteraciones son prácticamente desconocidos, aunque se consideran fisiológicamente importantes.

Hay un grupo de dinucleótidos que se producen de forma aberrante durante el funcionamiento de las aminoacil-tRNA sintetasas, enzimas implicadas en la síntesis proteica. Bajo algunas circunstancias, un nucleótido sustituye al sustrato normal que es el tRNA, con formación de dinucleótidos adenilados como la **diadenosina 5',5''-tetrafosfato (Ap4A)** o su análogo trifosfato, (Ap3A) El Ap3A y el Ap4A representan, al menos en las bacterias, compuestos que ayudan a la célula a responder al estrés oxidativo impuesto por algunos agentes, como el peróxido de hidrógeno. Actualmente, existen evidencias en las células animales de que el Ap4A sirve como un regulador positivo para la replicación de DNA. Así, las concentraciones de Ap4A van paralelas a la actividad proliferativa de numerosas células eucarióticas. El Ap4A se une a la DNA polimerasa y actúa como un agente iniciador de la síntesis de DNA *in vitro*. Más recientemente, se ha demostrado que el Ap4A está implicado en los procesos de regeneración hepática después de hepatectomía parcial.

Existen varios **oligonucleótidos de la adenina** que se producen como parte del mecanismo por el cual los interferones permiten a las células eucariotas resistir los ataques de los virus RNA. Los interferones estimulan la síntesis de

una enzima, la oligo-2',5'-adenilato sintetasa, que se activa por RNA de doble cadena. Esta enzima cataliza la síntesis de oligoadenilatos (denominados 2-5A) que se unen, no por enlaces 3',5' fosfodiéster, como en los ácidos nucleicos, sino por enlaces 2',5'. Los 2',5'-oligoadenilatos activan una ribonucleasa endógena que degrada el RNA mensajero viral, bloqueando la síntesis de proteínas virales.

3.4. Catabolismo de nucleótidos

Los ácidos nucleicos de origen endógeno son degradados a través de la acción de endonucleasas y de fosfodiesterasas, dando lugar a diferentes mononucleótidos que posteriormente son hidrolizados hasta nucleósidos por varias nucleosidasas específicas y por una amplia variedad de fosfatasas no específicas. Los nucleósidos pueden ser reutilizados por los tejidos, tal y como se ha comentado con anterioridad, por las vías de recuperación para la síntesis de nuevos nucleótidos, o bien pueden ser hidrolizados hasta nucleobases a través de la acción de nucleósido fosforilasas y de nucleosidasas.

Nucleósido + P_i → Base + ribosa-1-fosfato

Nucleósido + H_2O → Base + ribosa

Asimismo, el proceso digestivo de los ácidos nucleicos procedentes de la dieta genera nucleósidos y nucleobases en diferente proporción a través de la acción de las nucleasas pancreáticas y de diferentes fosfodiesterasas y fosfatasas.

Tanto las nucleobases como los nucleósidos originados endógenamente o en el proceso digestivo pueden ser también degradados. Las nucleobases procedentes del metabolismo de los nucleótidos se degradan hasta ácido úrico y urea según se trate de bases púricas o pirimidínicas, respectivamente. Aunque el ácido úrico se considera por muchos un producto de desecho, se trata de un agente reductor de gran importancia en humanos. Además de esa función antioxidante en el plasma, también se le ha asignado un papel antimicrobiano, especialmente el producido en el intestino.

3.4.1. Catabolismo de nucleótidos púricos

En el catabolismo de los nucleótidos púricos se forman dos nucleósidos, inosina y guanosina, que son posteriormente convertidos hasta las bases hipoxantina y guanina. Los desoxinucleósidos procedentes del DNA, a través de la acción de las fosforilasas presentes en todos los tejidos, dan lugar a desoxirribosa fosfato y la base correspondiente. La adenosina y la desoxiadenosina no son atacadas por las fosforilasas en los tejidos de mamíferos, sino que la mayor parte del AMP es convertido hasta IMP por una aminohidrolasa, denominada AMP desaminasa, muy activa en el músculo y en otros tejidos. El IMP generado es degradado posteriormente a inosina por acción de una 5'-nucleotidasa ligada a la membrana celular. El AMP puede ser convertido a su nucleósido adenosina por acción de esta última enzima, y el nucleósido es posteriormente metabolizado a inosina por la adenosina desaminasa (ADE), una enzima también presente en muchos tejidos de mamíferos.

Esta última enzima es de un gran interés a causa de que su deficiencia hereditaria genera un síndrome de inmunodeficiencia grave, ocasionado por la incapacidad de proliferación de los linfocitos y la consiguiente incapacidad de respuesta frente a un estímulo antigénico.

La inosina formada por cualquiera de las dos vías anteriormente citadas es fosforilada para generar hipoxantina a través de la acción de la purina nucleósido fosforilasa (PNP). La deficiencia congénita de esta enzima se asocia a una deficiencia en la inmunidad celular, aunque no en la inmunidad humoral. La **Figura 11** muestra un esquema del catabolismo de los nucleótidos púricos.

Aunque se ha señalado previamente que la mayor parte de la hipoxantina y de la guanina producidas en las células de los mamíferos es convertida a IMP y GMP por la HGPRT, alrededor del 10% es catabolizada. La xantina oxidasa, una enzima presente en grandes cantidades en el hígado, en la mucosa intestinal, en los endotelios vasculares y en cantidades traza en otros tejidos, oxida la hipoxantina hasta xantina y ésta hasta ácido úrico. La xantina oxidasa es una proteína que contiene FAD, molibdeno, hierro y azufre y que, además de producir peróxido de hidrógeno, es un productor fuerte de anión superóxido. Esta enzima oxida una amplia va-

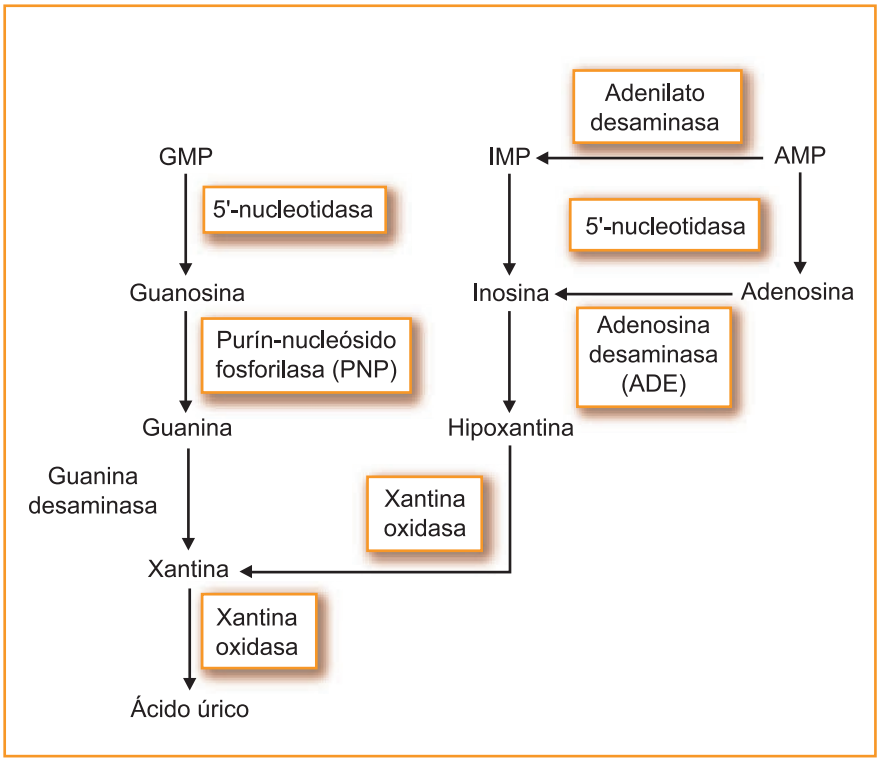


Figura 11. *Catabolismo de nucleótidos púricos.*

riedad de purinas, aldehídos y pteridinas. La enzima presenta dos variantes: la proteína recién sintetizada se denomina xantina deshidrogenasa y utiliza NAD^+ como coenzima; tras una proteólisis parcial y oxidación se convierte en la xantina oxidasa. Esta enzima desempeña un papel importante en los mecanismos de daño celular mediados por radicales libres de oxígeno en los procesos de isquemia y reperfusión (*ver Capítulo 1.19*).

Se conocen algunos casos de deficiencia de xantina oxidasa. Cabe mencionar el déficit de xantina deshidrogenasa, el déficit combinado de xantina deshidrogenasa y sulfito oxidasa, y los déficits inducidos por el tratamiento con alopurinol. En todos los casos se observa una concentración muy baja de úrico y alta concentración de xantina en la orina, de ahí que estos déficits se conozcan como xantinurias.

La guanina desaminasa o guanasa, presente en el hígado, cerebro y en otros tejidos de mamíferos, es la enzima que cataliza la formación de xantina a partir de guanina. La oxidación subsiguiente de xantina hasta ácido úrico se lleva a cabo por la xantina oxidasa, al igual que ocurría con la xantina procedente del metabolismo de la adenina.

3.4.2. Catabolismo de nucleótidos pirimidínicos

Las vías catabólicas para los nucleótidos pirimidínicos son más simples que las de los nucleótidos púricos. Existe un cierto número de enzimas presentes en muchas células capaces de desaminar la citosina o sus nucleósidos o nucleótidos hasta los derivados de uracilo correspondientes. La citosina desaminasa está presente exclusivamente en microorganismos; sin embargo, la citidina desaminasa está ampliamente distribuida en los tejidos de mamíferos y en otros organismos. Una desoxicitidina desaminasa está, asimismo, presente en varios tejidos de mamíferos. Esta enzima produce dUMP, el cual es susceptible de ser atacado por la 5'-nucleotidasa para dar desoxiuridina. Aunque la función fisiológica de estas desaminasas no se conoce completamente, la uridina y la desoxiuridina formadas pueden ser posteriormente degradadas por la uridina fosforilasa hasta uracilo, de manera que estas reacciones proveen una vía para la conversión de nucleótidos de uracilo y citosina hasta uracilo y ribosa-1-fosfato o desoxirribosa-1-fosfato. Del mismo modo, los nucleósidos de la timina y sus nucleótidos pueden ser convertidos por la 5'-nucleotidasa y la fosforilasa hasta timina.

Existen enzimas presentes en el hígado, capaces de catabolizar tanto uracilo como timina. Una misma enzima reduce el uracilo y la timina hasta los correspondientes 5,6-hidroderivados. Esta enzima hepática utiliza NADPH como agente reductor. La hidropirimidina hidrasa abre posteriormente el anillo reducido de pirimidina y, finalmente, el grupo carbamilo es hidrolizado del producto, generándose β-alanina o β-aminoisobutírico, respectivamente de uracilo y timina, y posteriormente malonil-CoA. La **Figura 12** refleja un esquema del catabolismo de los nucleótidos pirimidínicos.

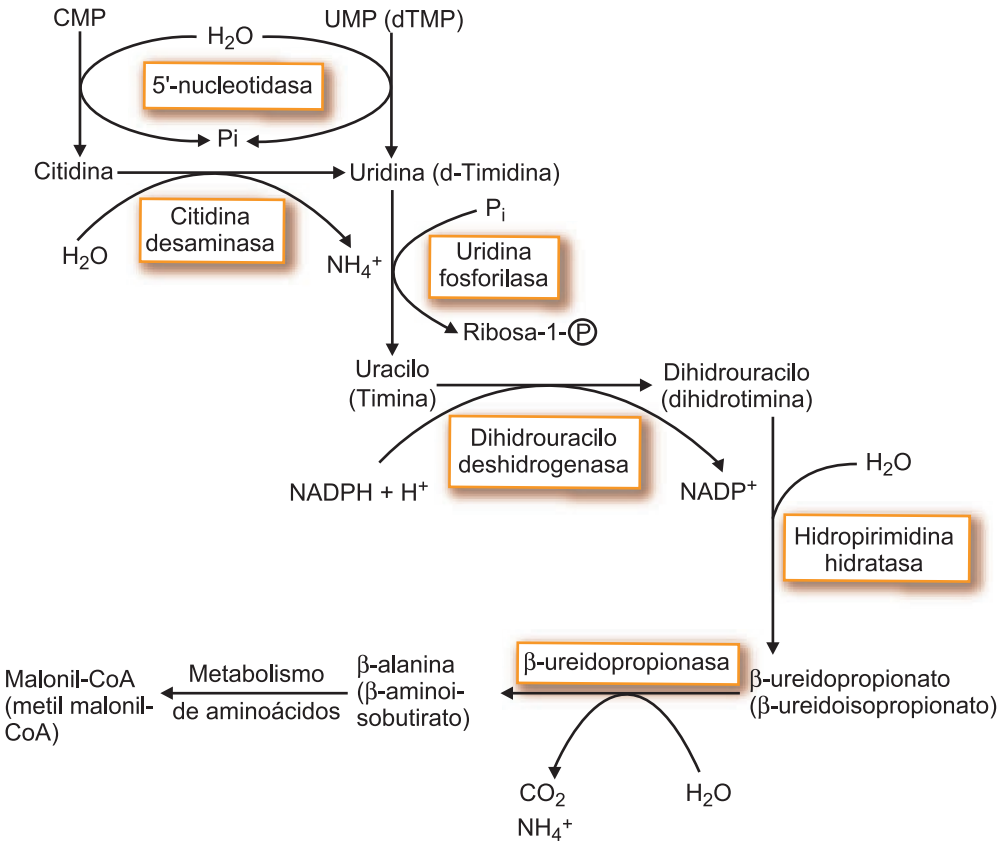


Figura 12. *Catabolismo de nucleótidos pirimidínicos.*

3.5. Regulación del metabolismo de los nucleótidos

Entre las reacciones de biosíntesis y degradación ya descritas, existen numerosas posibilidades para el establecimiento de ciclos fútiles en los cuales los nucleótidos, construidos a través de las vías biosintéticas, se degradan en las rutas catabólicas para dar productos estrechamente relacionados con los materiales de partida. Como un ejemplo, el AMP sintetizado a partir de IMP por la adenilo-succinato sintasa y la adenilo-succinato liasa puede ser hidrolizado de nuevo hasta IMP por la adenilato desaminasa; el resultado neto es la conversión de aspartato a fumarato y amonio, y la hidrólisis de GTP hasta GDP y P_i.

Para evitar estos ciclos fútiles, tanto los procesos biosintéticos como los catabólicos están controlados eficazmente. La eficiencia de estos controles se demuestra por la actividad aumentada de numerosas enzimas implicadas en la biosíntesis de nucleótidos cuando las células están en estado de proliferación. Los mecanismos reguladores aumentan la biosíntesis de nucleótidos y los nucleótidos intracelulares procedentes de la degradación del RNA y del DNA son reutilizados eficientemente La importancia de estos mecanismos reguladores se deriva de las consecuencias drásticas que ocurren cuando alguna de las enzimas implicadas en la maquinaria metabólica no existe, como es el caso del síndrome de Lesch-Nyhan, en donde hay un déficit total de HGPRT, o cuando se interviene el metabolismo de los nucleótidos con medicamentos tales como la 6-mercaptopurina.

La biosíntesis de nucleótidos está regulada por mecanismos de retroinhibición de forma que los productos inhiben las primeras enzimas de la vía. La regulación indicada permite que se hagan las

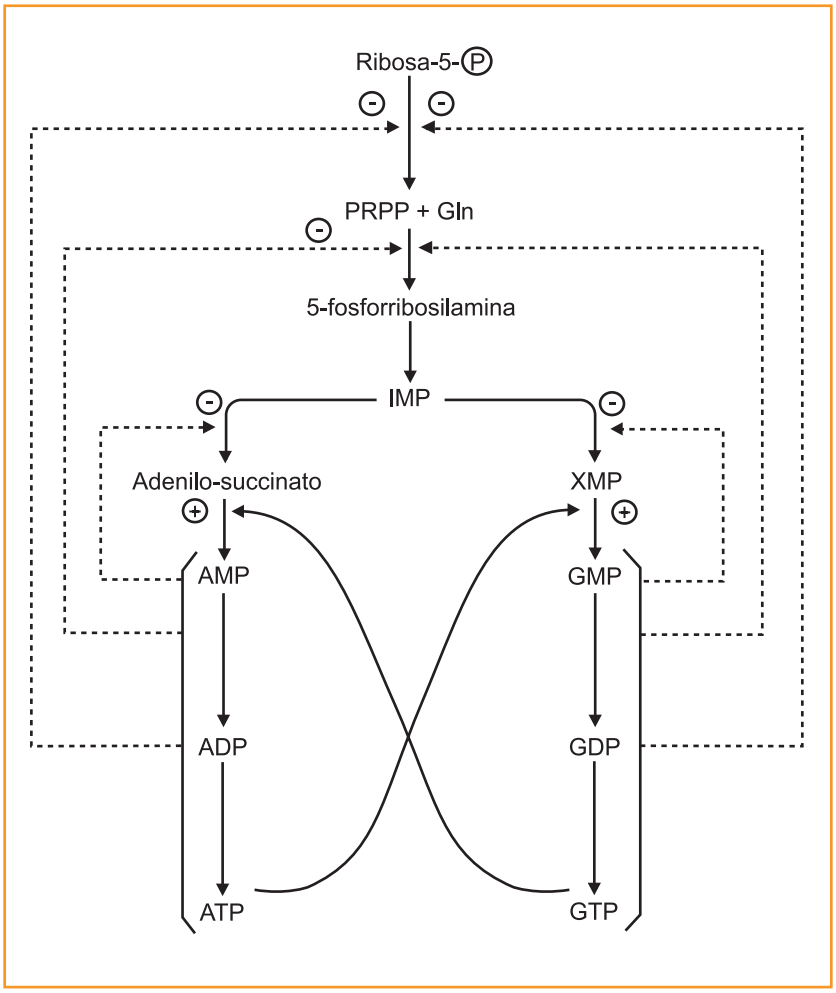


Figura 13. *Regulación de la biosíntesis de nucleótidos púricos.*

cantidades necesarias de cada nucleótido en las proporciones adecuadas. Este hecho es relevante ya que uno de los destinos principales es la síntesis de ácidos nucleicos, la cual requiere del conjunto equilibrado de los mismos. Hay que hacer notar también que los principales reguladores son los nucleótidos monofosfato.

3.5.1. Regulación de la biosíntesis de nucleótidos púricos

La **Figura 13** muestra la regulación de la biosíntesis de nucleótidos púricos.

Numerosas evidencias indican que el primer paso en la biosíntesis de nucleótidos purínicos, catalizado por la glutamina PRPP amidotransferasa, es el paso limitante para la secuencia de reacciones posteriores. Consecuentemente, la regulación de esta enzima es probablemente el factor más importante en el control de la síntesis de purinas *de novo*. La enzima es inhibida por purín 5'-nucleótidos, pero los nucleótidos más inhibidores varían de acuerdo con la fuente de la enzima. La enzima, habitualmente, es inhibida por AMP, GMP e IMP. Algunos nucleósidos difosfatos y trifosfatos son también efectivos como inhibidores. El efecto máximo de esta inhibición se produce por ciertas combinaciones de nucleótidos como AMP y GMP en concentraciones y proporciones que aparentemente indican dos lugares de unión a la enzima. Esto es un ejemplo de inhibición *feed-back* "concertada". La velocidad de la reacción de la amido transferasa está asimismo gobernada por las concentraciones intracelulares de sus sustratos glutamina y PRPP. La PRPP sintetasa es inhibida también por varios nucleótidos purínicos, particularmente AMP, ADP y GDP.

El segundo nivel importante de regulación es el camino de ramificación hacia la síntesis de AMP y GMP a partir de IMP. La primera de las dos reacciones, que genera AMP a partir de IMP, es la síntesis irreversible de adenilo-succinato. Este paso requiere GTP como fuente de energía y es inhibido por AMP. De las dos reacciones que se requieren para convertir IMP hasta GMP, la primera es irreversible y se inhibe por GMP y la segunda requiere ATP como fuente de energía. Así, existen dos tipos de regulación de la síntesis de nucleótidos purínicos: un control hacia delante (*forward*), por el cual el GTP acelera la síntesis de AMP, mientras que niveles elevados de ATP aceleran la síntesis de GMP, y una inhibición *feed-back*, por la cual el AMP y el GMP regulan su propia síntesis.

El exceso de AMP puede ser convertido hasta IMP por la adenilato desaminasa y, así, sirve como fuente de GMP. La adenilato desaminasa se activa

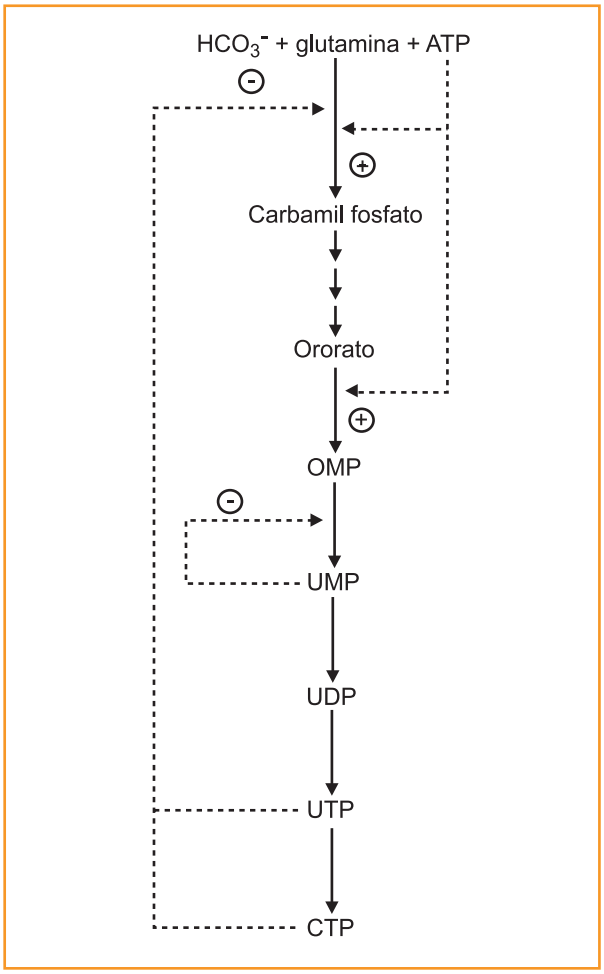


Figura 14. *Regulación de la biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos.*

por ATP y se inhibe por GTP, lo cual sirve para controlar la conversión potencial de adenín-nucleótidos hasta guanín-nucleótidos. Finalmente, cuando las reservas energéticas celulares son bajas, la inhibición *feed-back* de la ribosa-5-fosfato pirofosfokinasa por ADP y GDP restringe la síntesis de PRPP.

3.5.2. Regulación de la biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos

La **Figura 14** muestra la regulación de la biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos.

El control de la biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos se lleva a cabo fundamentalmente por una inhibición *feed-back* sobre la aspartato transcarbamilasa. Esta enzima, como complejo trifuncional CAD, es inhibida en los seres superiores por nucleótidos pirimidínicos y estimulada por nucleótidos purínicos. Sin embargo, se ha sugerido que bajo algunas condiciones, la UMP sintasa, como complejo funcional, puede ser también un sitio regulador.

Otro punto para el control de la síntesis de nucleótidos pirimidínicos es la amidotransferasa CTP sintetasa que convierte UTP a CTP. Esta enzima es inhibida alostéricamente por su producto CTP y activada por GTP.

Las enzimas que participan en la biosíntesis pueden bloquearse mediante análogos que resultan efectivos para impedir el crecimiento celular descontrolado (léase tumores). Así, la azaserina bloquea a la enzima CAD, la 6-azapurina bloquea la enzima UMP sintasa y el 5-fluorouracilo bloquea la timidilato sintasa. Igualmente, la aminopterina y ametopterina (metotrexato) bloquean la dihidrofolato reductasa, necesaria para la acción de la timidilato sintasa.

3.5.3. Regulación de la biosíntesis de desoxirribonucleótidos

La **Figura 15** resume la regulación de la biosíntesis de los desoxirribonucleótidos.

La regulación, tanto de la actividad como de la especificidad de la ribonucleótido reductasa, es esencial para mantener un *pool* equilibrado de precursores de DNA. La unión de ATP a los centros de actividad tiende a aumentar la eficacia catalítica de la ribonucleótido reductasa, mientras que el dATP actúa como un inhibidor general de las cuatro reacciones catalizadas por la enzima. La unión de los nucleótidos a los centros de especificidad modula las actividades de la enzima hacia diferentes sustratos, de forma que se mantengan proporciones equilibradas de los cuatro desoxirribonucleósidos trifosfato. Por ejemplo, la unión del dCTP activa la enzima para la reducción de GDP pero desciende su capacidad para reducir UDP o CDP; estos efectos se pueden observar *in vivo*, así como con la enzima purificada *in vitro*.

Además, se ha observado que en células en sincronismo celular, en donde existe un bloqueo por timidina, se acumula dTTP a partir de la vía de recuperación, mientras que existe una disminución específica de dCTP. La adición de desoxicitidina al medio de cultivo restaura el *pool* normal de dCTP y elimina el bloqueo por timidina.

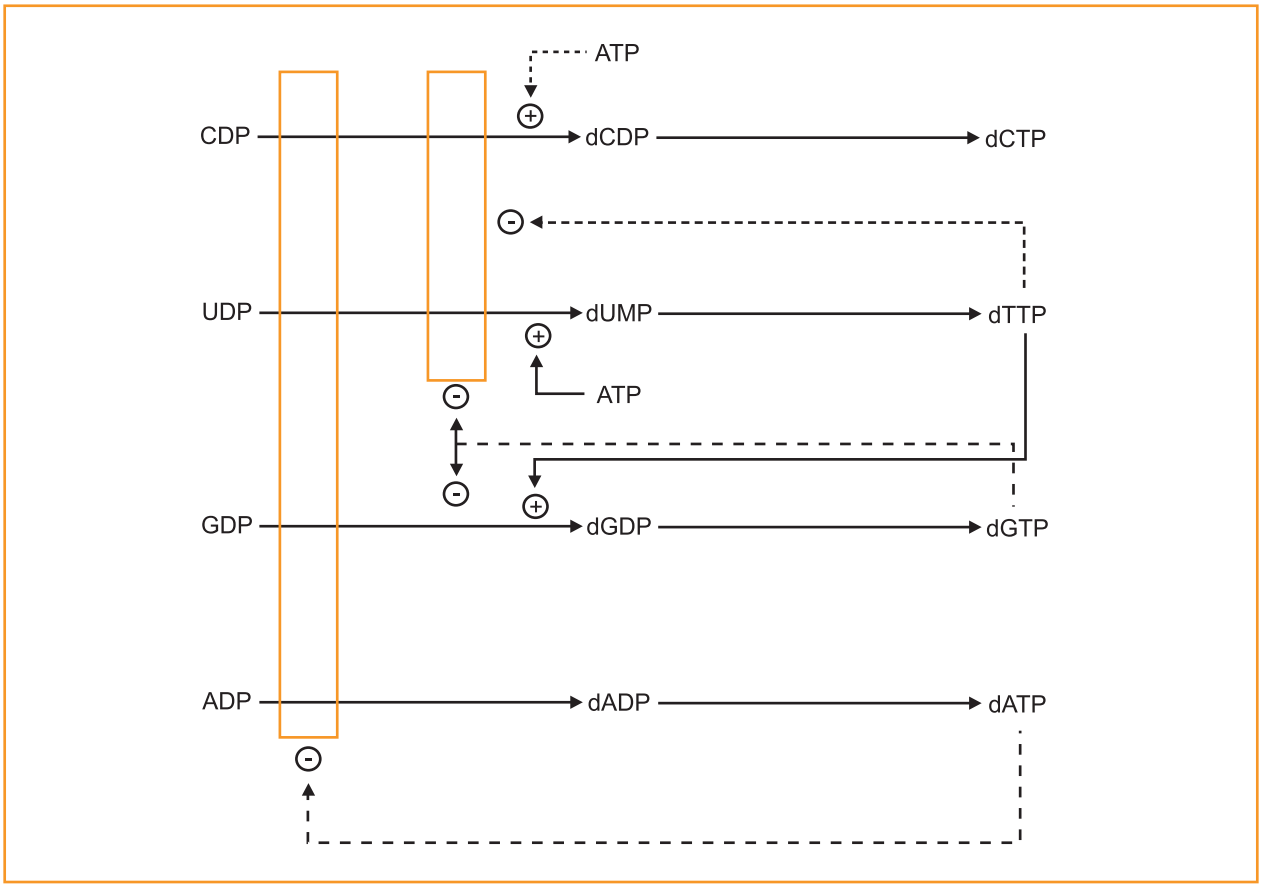


Figura 15. *Regulación de la biosíntesis de desoxirribonucleótidos.*

Por otra parte, el ácido fólico es necesario tanto para la timidilato sintasa como para el complejo de la transformilasa, de ahí que su falta detenga la síntesis de nucleótidos y con ello la división celular.

Se conocen muy pocas enfermedades relacionadas con la biosíntesis, posiblemente porque sin nucleótidos no puede existir vida. La actividad exagerada de la enzima fosforribosilpirofosfato sintetasa origina un aumento de nucleótidos de purina y mayor producción de ácido úrico, pudiendo originar gota. Asimismo, el déficit de UMP sintasa origina aciduria orótica, como ya se ha comentado.

3.6. Visión de conjunto del metabolismo de los nucleótidos púricos (aspectos fisiopatológicos)

En la **Figura 16** se ofrece una visión de conjunto del metabolismo de los nucleótidos púricos que incluye la vía de síntesis *de novo*, la vía de recuperación y la vía degradativa.

El principal problema patológico relacionado con el metabolismo de las purinas es la gota úrica, caracterizada por la precipitación de cristales de urato sódico en las articulaciones. La gota se desencadena en los individuos predispuestos como consecuencia de la hiperuricemia, ya que el ácido úrico es muy poco soluble. En el ser humano, aproximadamente tres individuos de cada mil sufren hiperuricemia. No obstante, es preciso aclarar que la hiperuricemia no equivale a la gota, por cuanto en esta patología intervienen otros factores además del ácido úrico, especialmente los relacionados con la integridad de los endotelios articulares.

Las principales causas de hiperuricemia son secundarias a determinadas dietas y enfermedades **(Tabla 2)**. Los defectos primarios tienen una prevalencia muy baja. La hiperuricemia puede estar causada por problemas de excreción renal o por un aumento en la producción de ácido úrico. A su

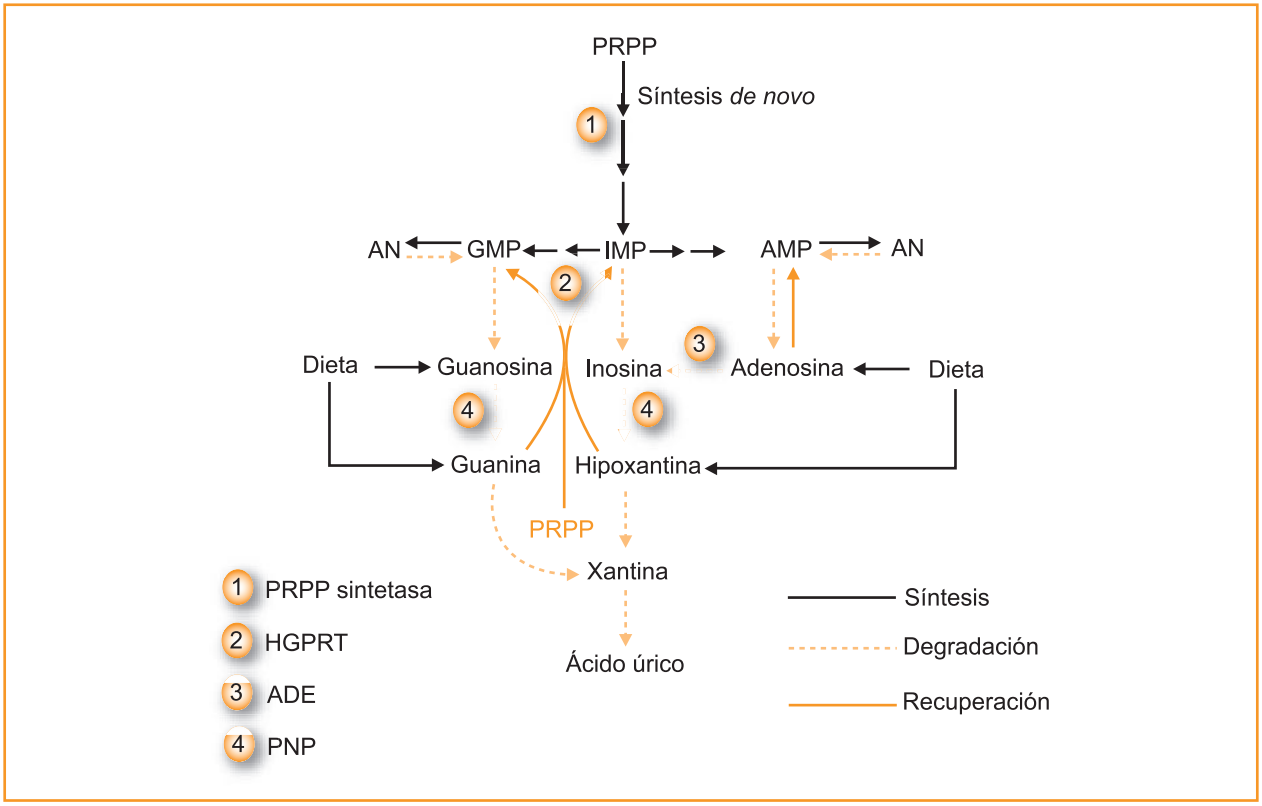


Figura 16. *Visión de conjunto del metabolismo de los nucleótidos púricos.*

Tabla 2. ALGUNAS CAUSAS DE HIPERURICEMIA

Hiperuricemias primarias	Hiperuricemias secundarias
Neuropatía hiperuricémica familiar	Exceso de purinas de la dieta
Déficit de HPRT	Exceso de fructosa de la dieta
PRPP sintetasa hiperactiva	Exceso de alcohol
	Terapia antineoplásica
	Terapia diurética
	Enfermedad renal
	Hipoglucemia
	Glucogenosis I, III, V, VII
	Enfermedades mieloproliferativas
	Miopatías
	Hipoxia

vez, el aumento en la formación de ácido úrico puede estar motivado por una ingesta muy elevada de purinas o de proteínas, ya que el anillo púrico se forma a partir de varios aminoácidos (*ver apartado 3.1.2 de este mismo Capítulo*), por una destrucción masiva de células, o por defectos enzimáticos.

El exceso de purinas en la dieta y el alcohol son dos de las causas dietéticas más frecuentes de hi-

peruricemia. Comer y beber alimentos ricos en purinas estimula los ataques agudos de gota en los individuos susceptibles. No obstante, aunque la gota históricamente se asocia con un exceso de "buena vida" se desconocen en gran medida los efectos de alimentos específicos en el desarrollo de hiperuricemia. Según estudios epidemiológicos recientes, parece que, entre los factores dietéticos, el consumo de carne, seguido del consumo de pescado, es lo que más influencia el aumento plasmático de ácido úrico. En el Capítulo 4.22 se analiza detalladamente el efecto de la nutrición en las hiperuricemias.

El alcohol induce la formación de ácido úrico ya que genera una gran cantidad de IMP en la hidrólisis del acetil-AMP. La relación entre hipertrigliceridemia e hiperuricemia no es casual, sino que ambas condiciones patológicas pueden deberse al consumo excesivo de alcohol. Lo mismo ocurre con el consumo de azúcares si está presente la fructosa, por ejemplo, en la sacarosa. El consumo de fructosa induce una mayor producción de ácido úrico como consecuencia del atrapamiento de fosfato, al formarse fructosa-1-fosfato en el hígado, lo que supone una menor disponibilidad del mismo para la formación de nucleótidos y el aumento de la vía de degradación de purinas.

En las enfermedades mieloproliferativas, en las miopatías y en cualquier circunstancia en la que se eleve la necrosis celular, como ocurre en la hipoxia, los ácidos nucleicos se degradan contribuyendo a aumentar el flujo metabólico que conduce al ácido úrico, igual que ocurre con el exceso dietético. Asimismo, algunos defectos enzimáticos como el fallo en la HGPRT, que origina el síndrome de Lesch-Nyhan, comentado con anterioridad, son causa de una gran hiperuricemia ya que los individuos con esta alteración genética carecen de la capacidad para recuperar purinas; además, sufren un gravísimo deterioro mental, que incluye la tendencia a la automutilación.

Numerosos casos de hiperuricemia se pueden tratar con éxito con un antimetabolito denominado alopurinol, un análogo estructural de la hipoxantina que actúa inhibiendo fuertemente la xantina oxidasa. Como la hipoxantina y la xantina son más solubles que el ácido úrico, pueden ser excretadas más fácilmente, teniendo en cuenta que su acumulación por tratamiento con alopurinol no es deletéreo.

3.7. Aspectos particulares del metabolismo de los nucleótidos

3.7.1. Función reguladora y participación en ciclos metabólicos

El nucleósido adenosina, formado durante la degradación de los ácidos nucleicos, bien de origen endógeno o procedente de la dieta, desempeña una función importante como regulador de la actividad del SNC en los seres superiores. La unión de la adenosina a receptores celulares asociados a la membrana regula la formación de AMPc, por la vía de la adenilato ciclasa, de la misma forma que actúan otras hormonas. Desde el punto de vista farmacológico, la adenosina tiene un efecto depresor de las actividades del SNC. Las metilxantinas que actúan como estimulantes son antagonistas de las acciones de la adenosina y de sus receptores y se considera que su acción es responsable de las actividades biológicas de estos compuestos.

Un aspecto particular de la adenosina es su participación en el ciclo metionina-homocisteína. Como resultado de las reacciones en las que interviene la S-adenosil metionina (SAM) como agente metilante, se generan adenosina y homocisteína. Cuando la SAM se deriva hacia la síntesis de poliaminas, se genera adenina. Hay que hacer notar la existencia de dos ciclos interconectados entre los nucleótidos de adenina y los aminoácidos azufrados, siendo la adenosina y la metionina los que mantienen los ciclos mediante el aporte exógeno (*ver Capítulos 1.14, 1.15 y 1.22*).

Otro aspecto especial del metabolismo de los nucleótidos es el que tiene lugar en músculo e hígado y se conoce como ciclo de los nucleótidos de purina **(Figura 17)**. Este ciclo permite transformar AMP en IMP, por la acción de la mioadenilato desaminasa (AMP desaminasa), y con ello convertir el AMP en otros nucleótidos. En el músculo sirve también para obtener energía usando aminoácidos. Así, en el ejercicio se estimula la desaminasa y en circunstancias de déficit enzimático se producen mialgias tras el mismo.

La salida a la circulación de nucleótidos, nucleósidos y bases desde los tejidos es frecuente. La salida de nucleósidos es la principal, debido a la existencia de transportadores. La salida de nucleótidos es más ocasional. De hecho, los nucleótidos no pueden atravesar usualmente las membranas. La

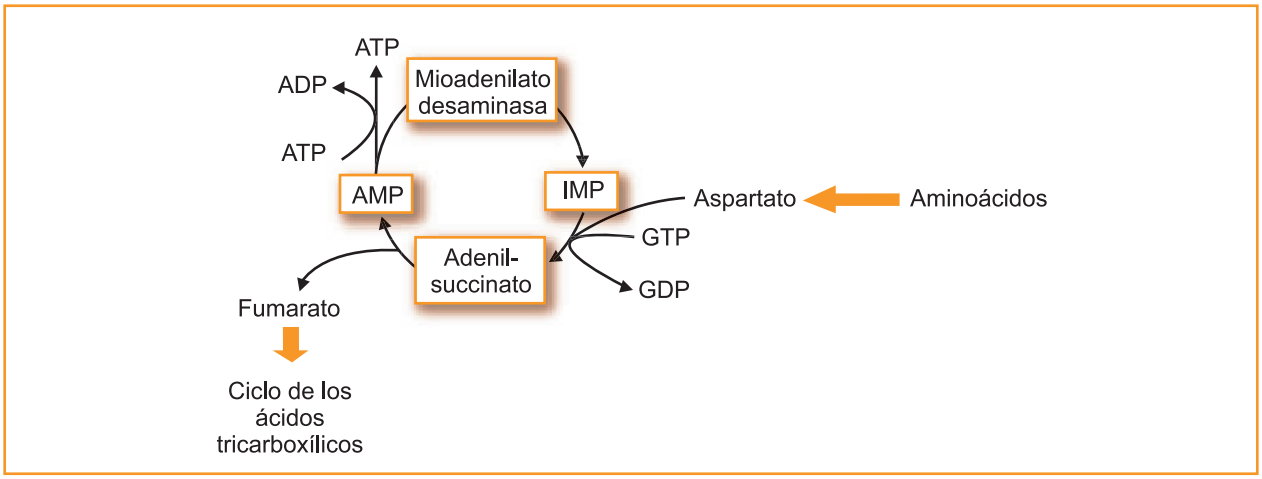


Figura 17. *Ciclo de nucleótidos púricos en músculo e hígado.*

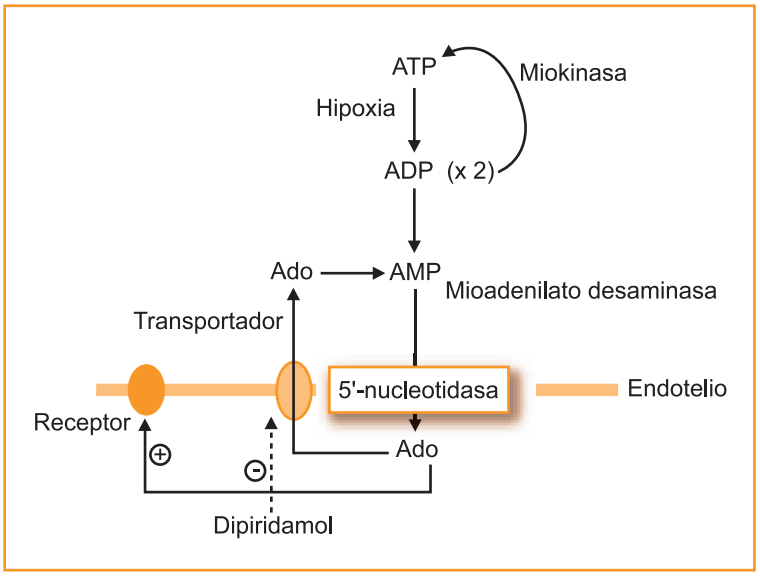


Figura 18. *Implicaciones de los nucleótidos en la hipoxia.*

salida puede ser debida bien a la rotura de la célula o a su secreción por exocitosis desde vesículas que los contienen. Así ocurre, por ejemplo, durante la activación de las plaquetas, así como en los nervios locales, principalmente los terminales simpáticos que inervan el músculo liso de los vasos. La salida de nucleótidos al exterior puede deberse también al transporte transmembrana, llevado a cabo por proteínas específicas, como ocurre en la activación de las células endoteliales vasculares y del músculo liso. En la vasculatura de un individuo sano los nucleótidos liberados de las plaquetas, especialmente los derivados de adenina, actúan sobre el endotelio estimulando la secreción de prostaciclina y de óxido nítrico, dando lugar a una acción relajante y antiproliferativa del músculo liso. Por otra parte, los derivados de la uridina participan en la modulación de la actividad tanto del sistema nervioso central como del sistema nervioso periférico.

El metabolismo de los nucleótidos durante la hipoxia es interesante para entender cómo la hidrólisis de nucleótidos puede ser en sí misma una señal para la restauración de la oxigenación durante la reperfusión de los tejidos que sigue a la isquemia **(Figura 18)**. La hipoxia origina la rápida degradación del ATP hasta AMP en el miocardio. El AMP se convierte entonces en adenosina por la 5'-nucleotidasa del endotelio y escapa al exterior de la célula. La adenosina tiene efectos vasodilatadores que favorecen la oxigenación (reperfusión) al interaccionar con un receptor de membrana. El dipiridamol es un conocido agente antihipertensivo que actúa precisamente bloqueando el transportador endotelial de adenosina, lo que facilita la interacción con el receptor.

3.7.2. Receptores de nucleósidos y nucleótidos

Son muchos los receptores caracterizados tanto para nucleósidos como para nucleótidos, algunos de los cuales se muestran en la **Tabla 3**.

Tabla 3. ALGUNOS RECEPTORES DE NUCLEÓTIDOS

Receptor	Tejido	Agonista	Efecto
P1A1	Corazón	Adenosina	Inotropismo negativo
PA2	Plaquetas	Adenosina	Desagregación
PA1	Nervios	Adenosina	Inhibición de la liberación de neurotransmisores
P2X	Endotelio vascular	ATP y otros nucleótidos derivados de adenosina	Vasoconstricción
$P2Y_1$	Endotelio vascular	ADP	Vasoconstricción
$P2Y_2$	Endotelio y musculatura lisa vascular	UTP, ATP, Ap4A y Ap3A	Vasodilatación
$P2Y_4$	Endotelio y musculatura lisa vascular	UTP	Vasodilatación
$P2Y_6$	Endotelio y musculatura lisa vascular	UDP	Vasodilatación

Hasta la fecha se han identificado tres receptores de adenosina (A_1-A_3), siete receptores de nucleótidos correspondientes a la clase denominada P2X, los cuales son canales iónicos de apertura por unión a ligandos, y cinco receptores de nucleótidos de la clase P2Y, acoplados a proteínas G (*ver Capítulo 1.5*). La existencia de estos receptores, especialmente en los endotelios de la microvasculatura y en la musculatura lisa de los vasos, indica el importante papel que juegan los nucleótidos como señales locales, y de forma particular en el sentido descrito durante la hipoxia.

La especificidad de los diferentes receptores de nucleótidos es variable. Así, todos los receptores P2X y el $P2Y_{11}$ son específicos para ATP y otros nucleótidos derivados de la adenina. El receptor $P2Y_1$ responde exclusivamente a ADP, el $P2Y_2$ se une igualmente a ATP y a UTP, así como a polifosfatos de adenina, y los receptores $P2Y_4$ y $P2Y_6$ responden exclusivamente a UTP y UDP, respectivamente.

La unión de ATP y otros derivados de adenina a los receptores P2X en las células endoteliales causa vasoconstricción, mientras que la unión de los nucleótidos de adenina y de uridina a los receptores P2Y estimula la producción y liberación de prostaciclina PGI_2, un efecto mediado por la fosfolipasa C (*ver Capítulo 1.5*).

El efecto de los nucleótidos extracelulares depende del tiempo que estén en la sangre. Dos mecanismos se oponen a su permanencia: la captación por el transportador y las transformaciones en el plasma. Los nucleótidos di y trifosfato son rápidamente hidrolizados en el plasma por la fosfatasa alcalina originando mononucleótidos, los cuales son degradados a nucleósidos por enzimas como la 5'-nucleotidasa y otras ectonucleotidasas presentes en las membranas de los endotelios. Los nucleósidos entonces pueden ser captados por los transportadores.

4. Digestión, metabolismo y funciones de los nucleótidos de la dieta

4.1. Contenido en nucleótidos de los alimentos

Los nucleótidos están naturalmente presentes en todos los alimentos, tanto de origen animal como vegetal, encontrándose como nucleótidos libres y como ácidos nucleicos en forma de nucleoproteínas. Existen amplias variaciones en los

Tabla 4. CONTENIDO DE BASES PÚRICAS Y RNA DE ALGUNOS ALIMENTOS

	A	G	H	X	Total	RNA
Vísceras						
Hígado de buey	62	74	61	0	197	268
Hígado de cerdo	59	77	71	82	289	259
Hígado de pollo	72	78	71	22	243	402
Hígado de cordero	32	43	54	18	147	88
Riñón de buey	42	47	63	61	213	134
Corazón de buey	15	16	38	102	171	40
Cerebro de buey	12	12	26	112	162	61
Pescado y mariscos						
Sardina	6	118	6	215	345	343
Anchoa	8	185	6	212	411	341
Jurel	11	26	5	152	194	203
Salmón	26	80	11	133	250	289
Atún	27	13	11	91	142	5
Ostra	39	22	30	16	107	239
Gamba	16	12	15	191	234	10
Calamar	18	15	24	78	135	100
Legumbres secas						
Garbanzos	17	14	18	7	56	356
Habichuelas blancas	59	74	25	44	202	305
Habichuelas pintas	57	54	16	44	171	485
Habichuelas rojas	54	51	13	42	162	140
Lentejas	104	82	20	16	222	484
Guisantes	88	74	11	22	195	173

Fuente: Gil A et al. *Nucleótidos y nutrición, 1993. Los resultados se expresan en mg/l00 g de alimento. A: derivados de adenina; G: derivados de guanina; H: derivados de hipoxantina; X: derivados de xantina.*

contenidos de DNA, RNA y de nucleótidos, nucleósidos y bases libres. La concentración de ácidos nucleicos en los alimentos depende del número de células que éstos contienen. Así, las carnes, los pescados y los embriones o semillas, así como los alimentos fermentados con un número elevado de microorganismos, contienen cantidades relativamente elevadas de DNA y RNA. Por el contrario, alimentos tales como la leche, las frutas y los huevos tienen bajos niveles.

El RNA y los nucleótidos libres se degradan muy rápidamente en los alimentos, y esta es la razón por la que en muchos de ellos aparecen cantidades significativas de nucleósidos y bases. Entre todos los alimentos conocidos, las vísceras, el pescado y las legumbres son los alimentos que tienen un mayor contenido de bases púricas. Las vísceras tales como el hígado, el cerebro y el riñón tienen cantidades elevadas de adenina y de hipoxantina y los compuestos mayoritarios encontrados en el pescado y la carne son el AMP, el IMP, la inosina y la hipoxantina, procedentes de la degradación del ATP muscular. La **Tabla 4** muestra los contenidos de RNA y de derivados de ba-

Tabla 5. CONTENIDO DE NUCLEÓSIDOS, NUCLEÓTIDOS Y ÁCIDOS NUCLEICOS DE LA LECHE DE MUJER Y DE VACA

	Mujer	Vaca
Nucleósidos libres (µmol/dl)		
Piridín nucleósidos	1,10-5,15	0,27-3,95
Purín nucleósidos	0,11-0,25	0,08-0,80
Nucleósidos totales	1,21-5,40	0,35-4,75
Nucleótidos libres (µmol/dl)		
Pirimidín nucleótidos	4,78-9,14	0,92-4,42
Purín nucleótidos	0,54-4,89	0,40-2,35
Nucleótidos totales	5,32-14,03	1,32-6,77
Ácidos nucleicos (mg/dl)		
RNA	11-60	8-19
DNA	0,8-12	11-39
Ácidos nucleicos totales	11,8-72	19-58

Fuente: Gil A et al. *Nucleótidos y nutrición, 1993.*

ses púricas de algunos alimentos ricos en estos compuestos.

No se conocen datos acerca del contenido de pirimidinas en los alimentos. Sin embargo, ya que las nucleoproteínas contienen cantidades equimolares de bases púricas y pirimidínicas, puede asumirse que el contenido de pirimidinas de los alimentos está dentro del mismo orden que el contenido de purinas.

Desde 1961, se utilizan los nucleótidos IMP y GMP como potenciadores del sabor de los alimentos, como agentes sinérgicos del glutamato monosódico, por lo que la adición sistemática de estos compuestos puede contribuir de manera importante a aumentar la ingesta de nucleótidos púricos. Habitualmente se adicionan a alimentos procesados tales como sopas deshidratadas, salsas, mayonesas, *ketchup*, *snacks*, conservas de carnes y pescados enlatados, y queso procesado, oscilando las cantidades añadidas entre 5 y 150 mg/100 g. No obstante, el nivel recomendado de uso por el Comité de aditivos de la FAO es de 5-30 mg/100 g.

Nucleósidos, nucleótidos y ácidos nucleicos constituyen una parte sustancialmente importante del nitrógeno no proteico en la leche de todas las especies. Los ácidos nucleicos de la leche derivan de los macrófagos, linfocitos, leucocitos polimorfonucleares y otras células presentes. Con independencia de los ácidos nucleicos, ligados a los elementos formes de la leche, existen cantidades variables de nucleósidos y nucleótidos libres según la especie. Así, se ha estimado que el total de ribonucleótidos potencialmente disponibles en la leche humana es del orden de 70 mg/l **(Tabla 5)**.

Tanto la leche humana como la leche de vaca cruda contienen al menos 10 nucleósidos diferentes. La uridina es cuantitativamente la más importante (2-4 µmoles/dl) seguida de la citidina (0,5-1,4 µmoles/dl). Por otra parte, la leche tiene una composición de nucleótidos libres particular para cada especie animal. El calostro de todas las especies es rico en UDP-hexosas y UDP-hexosaminas, así como en CDP-colina y otros derivados glucídicos de CDP. La leche humana madura es también rica en estos compuestos y en otros nucleótidos derivados de la guanina y de la adenina, mientras que la leche de rumiantes es muy pobre en nucleótidos. Además, en la leche de vaca aparece en cantidad relativamente elevada el ácido orótico, nucleobase ausente en la leche humana.

4.2. Digestión y metabolismo de los nucleótidos de la dieta

4.2.1. Digestión

Las nucleoproteínas se degradan en la luz intestinal por la acción de enzimas pancreáticas primero hasta ácidos nucleicos y luego hasta nucleótidos

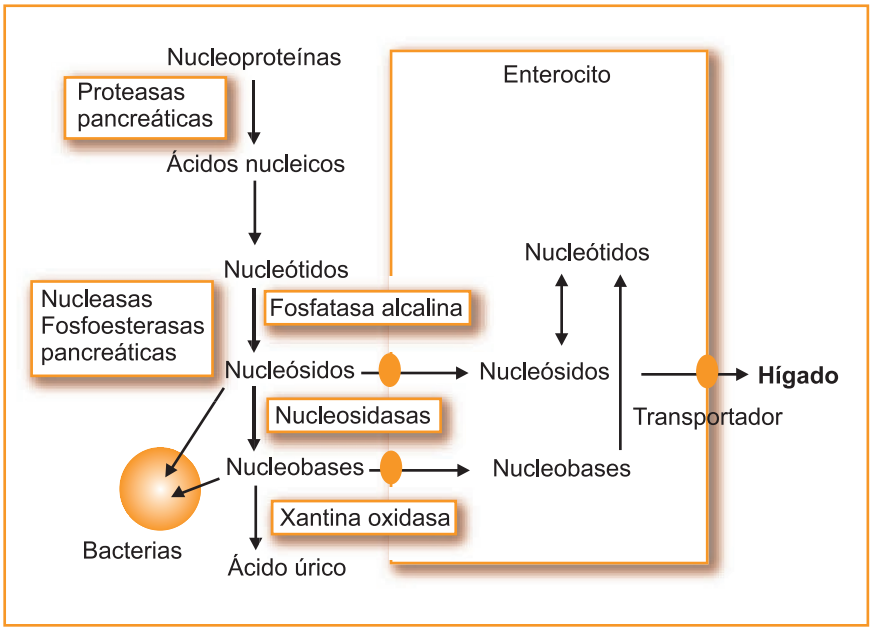


Figura 19. *Digestión y absorción de nucleótidos.*

Los nucleótidos se transforman en nucleósidos por la acción de la fosfatasa alcalina presente en el borde en cepillo del intestino.

La mayor parte de los nucleótidos de la dieta son ingeridos como ácidos nucleicos en forma de nucleoproteínas, siendo las enzimas proteolíticas presentes en el jugo gástrico y en la secreción pancreática las encargadas de liberar los ácidos nucleicos. Éstos no son afectados por las enzimas gástricas, pero en el intestino delgado, la ribonucleasa y la desoxirribonucleasa segregadas en el jugo pancreático los hidrolizan hasta oligonucleótidos, los cuales son posteriormente degradados hasta nucleótidos libres por la acción de fosfodiesterasas segregadas por el páncreas y por las glándulas de Brunner y de Lieberkühn, bajo la influencia hormonal de la enteroquinina.

Tanto la fosfatasa alcalina situada en el borde en cepillo de la pared intestinal como diversas fosfatasas presentes en la secreción pancreática parecen ser en gran medida las enzimas responsables de la hidrólisis de nucleótidos hasta nucleósidos. Además, los nucleótidos pueden ser hidrolizados por nucleotidasas y nucleosidasas presentes en la secreción intestinal o en las membranas de los enterocitos dando lugar a una mezcla de nucleósidos y de bases púricas y pirimidínicas libres **(Figura 19)**.

4.2.2. Absorción, transporte y destino metabólico

Gran parte de los nucleósidos y de las nucleobases producidos durante la digestión son absorbidos merced a transportadores específicos, aunque las últimas se absorben en mucha menor cantidad que los nucleósidos, siendo en su mayoría degradadas. De hecho, la mayor parte de las bases púricas se transforman en el propio intestino en ácido úrico por la acción de la xantina oxidasa.

Al igual que el intestino, prácticamente todas las células disponen de sistemas de transporte de nucleósidos y de bases, lo que permite a los tejidos, especialmente a aquéllos de rápida proliferación, incorporarlos desde el plasma sanguíneo y utilizarlos para la síntesis de nucleótidos a través de las vías de recuperación. Asimismo, estos transportadores permiten el transporte de análogos de nucleósidos utilizados ampliamente como medicamentos en el control del crecimiento de tumores.

Los **transportadores de nucleósidos** pertenecen a dos familias generales: los concentradores y los equilibradores. Los transportadores equilibradores (ENT) actúan en función de gradiente y permiten el flujo de nucleósidos entre células y medios extracelulares o entre compartimientos celulares. Los transportadores concentradores (CNT) requieren gasto de energía y el flujo está acoplado al de iones sodio.

Los transportadores EN están ampliamente distribuidos en todos los tejidos y se subdividen en dos tipos (*es* e *is*), en función de la sensibilidad o insensibilidad a la 6-tiopurina ribonucleótido, nitrobenziltioinosina (NBMPR). Ambos tipos muestran poca especificidad de sustrato para purín y pirimidín nucleósidos, incluyendo a la inosina, y los del tipo *es* pueden transportar también la nucleobase hipoxantina. Recientemente, se han identificado y clonado dos ENT humanos denominados hENT1 y hENT2, correspondientes respectivamente a los

tipos *es* e *is*. El hENT1 se encuentra preferentemente en eritrocitos, placenta, cerebro, corazón, hígado, bazo y colon, y el hENT2 se detecta en numerosos tejidos, siendo particularmente abundante en el músculo esquelético.

Los transportadores CN tienen una distribución más limitada que los EN y fundamentalmente se encuentran en los enterocitos, el epitelio renal, los hepatocitos, los leucocitos, el plexo coroideo, y otras células especializadas presentes en el músculo esquelético, el corazón, el páncreas y la placenta. Todos ellos son insensibles a NBMPR y se subdividen en tres tipos fundamentales *cit*, *cif* y *cib*, en función de que acepten transportar timidina, formicina B o un amplio número de permeantes, respectivamente. Los CNT *cit* transportan pirimidin nucleósidos, aunque la adenosina también es un pobre sustrato; los CNT *cif* aceptan purín nucleósidos y uridina; y los CNT *cib* aceptan todos los tipos de ribonucleótidos. Al igual que para los transportadores ENT, se han clonado varios tipos de CNT en el ser humano. El hCNT1 se corresponde con el tipo *cit*, el CNT2 con el sistema *cif* y el hCNT3 con el tipo *cib*. Además, se ha clonado recientemente otro tipo denominado hCNT4 que comparte propiedades con el hCNT2, pero, además, transporta guanosina. Por último, se ha identificado otro CNT, denominado *csg* que es sensible al NBMPR, lo que supone una excepción dentro de este tipo de transportadores, y que es específico para guanosina, estando presente en células promielocíticas.

Como se muestra en la **Figura 19**, los nucleósidos y nucleobases no absorbidos pueden ser captados por la microbiota intestinal, muchas de cuyas especies son dependientes del aporte exógeno para su crecimiento.

En el enterocito los nucleósidos se utilizan para sus propios fines y parte se exporta a la circulación, que los conduce al hígado. La mucosa intestinal parece ser dependiente para su crecimiento y función del aporte exógeno, al menos el yeyuno, de ahí que los nucleótidos tengan un valor trófico para esta zona. En procesos de recuperación a diferentes agresiones intestinales se ha podido demostrar este efecto beneficioso. Así, durante las tres últimas décadas se han acumulado evidencias que indican que el intestino delgado es incapaz de sintetizar purinas *de novo* en cantidad suficiente para cubrir las necesidades derivadas de la proliferación celular. Sin embargo, este tejido es capaz de utilizar la adenina de la dieta e incorporarla activamente para la síntesis de ácidos nucleicos. La ingesta de una dieta deficiente en purinas estimula la síntesis *de novo* de nucleótidos por el intestino pero, aún así, la actividad de la enzima glutamina amido fosforribosil transferasa es muy pequeña en comparación con otros tejidos como el intestino grueso o el hígado. Por otra parte, la presencia de nucleótidos en la dieta aumenta la expresión génica de los transportadores de nucleósidos y de la enzima HGPRT.

En el hígado, como en los demás tejidos, los nucleósidos pueden ser utilizados por la vía de recuperación incorporándose a los hepatocitos con el consiguiente ahorro de síntesis. No obstante, el hígado parece jugar un papel homeostático similar al descrito para otros nutrientes. En efecto, el hígado es capaz de modificar rápidamente la síntesis en función del aporte exógeno y es capaz de eliminar el exceso, generando productos como el ácido úrico. Asimismo, los nucleósidos de la dieta, especialmente la uridina, pueden llegar a la circulación sistémica e incorporarse a las células sanguíneas y a los tejidos periféricos, especialmente el bazo y la médula ósea.

4.3. Funciones de los nucleótidos como nutrientes

Durante mucho tiempo se ha considerado que los nucleótidos de la dieta no eran nutrientes esenciales para los mamíferos, tanto en cuanto los tejidos pueden sintetizarlos a partir de aminoácidos y de otros compuestos sencillos, y porque se pensaba que la mayor parte de los nucleótidos ingeridos eran rápidamente degradados, principalmente hasta ácido úrico. Sin embargo, aunque la deficiencia de nucleótidos en la dieta no se ha relacionado con ninguna enfermedad, en las tres últimas décadas se han obtenido evidencias de que estos compuestos son beneficiosos para el ser humano, especialmente durante la infancia y en sujetos adultos con enfermedades graves tales como sepsis o politraumatismos.

Los tejidos de proliferación rápida, como el intestino. La médula ósea o el sistema inmunológico, no son capaces de satisfacer las necesidades celulares de nucleótidos exclusivamente a través de la síntesis *de novo* y utilizan preferentemente la vía de recuperación de nucleósidos y bases procedentes

de la sangre o de la dieta. Así, el aporte de nucleótidos en esta última es importante para el mantenimiento de un adecuado crecimiento o de la función celular en dichos tejidos.

Como se ha indicado con anterioridad, la leche humana contiene cantidades relativamente importantes de ácidos nucleicos y de nucleótidos libres, y su significación nutricional para el lactante ha sido objeto de numerosos estudios. La adición de nucleótidos a las fórmulas infantiles presenta beneficios para el neonato relacionados con la modulación del metabolismo de las lipoproteínas y de los ácidos grasos poliinsaturados, la proliferación y diferenciación de los enterocitos, la modificación de la microbiota intestinal, y la estimulación y modulación del sistema inmune.

Por otra parte, en los adultos, los nucleótidos de la dieta, aportados tanto por vía enteral como parenteral, influencian positivamente el balance nitrogenado y modulan la respuesta inmunológica, especialmente en sujetos con la inmunidad comprometida por estrés metabólico. Asimismo, en modelos experimentales inhiben la fibrogénesis hepática.

4.3.1. Crecimiento y diferenciación celular

En 1971 Paul Gyorgy observó un aumento de peso en ratas al destete alimentadas con una dieta baja en proteínas pero suplementada con nucleótidos. Posteriormente, utilizando nucleótidos marcados radiactivamente o con isótopos estables se ha demostrado en diferentes modelos experimentales que los nucleótidos de la dieta se incorporan preferentemente al intestino, siendo el duodeno y el yeyuno los destinos metabólicos principales. Parte de los nucleótidos incorporados son distribuidos al hígado y a los tejidos periféricos, particularmente a aquellos caracterizados por su elevado recambio. Asimismo, se ha demostrado que hay una mayor incorporación de los nucleótidos de la dieta en el RNA y DNA hepático en ratas al destete que en ratas adultas. Además, la administración por vía oral de ATP aumenta la captación intraluminal de purín nucleósidos y la capacidad de exportación de éstos a través de la vía portal, acompañándose de una captación incrementada de adenosina por los eritrocitos y conversión a ATP.

Recientemente, se ha descrito que los recién nacidos pequeños para la edad gestacional mejoran su crecimiento cuando son alimentados con una fórmula láctea suplementada con nucleótidos.

En el intestino, en ausencia de nucleótidos de la dieta, la síntesis *de novo* de bases púricas y pirimidínicas se activa, mientras que cuando están presentes se inhibe, activándose la vía de recuperación. Así, durante un estado de rápido crecimiento, la disponibilidad de nucleótidos procedentes del *pool* endógeno podría limitar el desarrollo intestinal especialmente durante un periodo de alta demanda, como infecciones o recuperación de una lesión intestinal.

Varios estudios indican que, en la vía de recuperación, la actividad de la HGPRT es más alta en intestino delgado que en hígado y colon, y que la dieta libre de purinas produce una disminución del mRNA específico de dicha enzima, así como una disminución del contenido proteico y del RNA intestinal total. Además, la actividad de la enzima clave en la síntesis *de novo* de purinas, fosforribosil pirofosfato amido transferasa, está aumentada cuando se administra una dicta exenta de nucleótidos. Por otra parte, la presencia de nucleótidos en la dieta aumenta la expresión de los transportadores CNT1 y CNT2, tanto en el intestino como en el hígado.

El intestino delgado incorpora proporcionalmente mayores cantidades de nucleótidos que otros tejidos, por lo que es lógico pensar que se trata de un órgano que se afecta por la suplementación de nucleótidos a la dieta. Así, varios estudios realizados tanto en animales de experimentación sanos como en modelos animales con desnutrición y diarrea crónica, han puesto de manifiesto que la alimentación con una dieta exenta de nucleótidos da lugar a menor cantidad de proteína, DNA, RNA, y menor actividad de disacaridasas, en todas las porciones intestinales, siendo más acentuada la disminución en la porción proximal. Por el contrario, los animales alimentados con una dieta adicionada de nucleótidos presentan un mayor contenido proteico y de ácidos nucleicos en el intestino, así como mayor altura de vellosidades y mayor actividad maltasa. Asimismo, los animales que ingieren la dieta suplementada presentan un menor grado de infiltración linfocitaria, una elevación de la altura y de la superficie de las microvellosidades y una disminución en la profundidad de las criptas, con respecto a los animales controles.

Trabajos recientes indican que los nucleósidos adicionados a los medios de cultivo son captados eficientemente por células intestinales cultivadas y por explantes intestinales. La guanosina y la uridina son los nucleósidos que se absorben con mayor velocidad. Asimismo, se ha observado que los nucleósidos aumentan el *pool* intracelular de nucleótidos libres e influencian la expresión de genes proapoptóticos, con una mayor expresión del gen *Bax* y una menor expresión del gen *bcl-2*. Por otra parte, se ha puesto de manifiesto que los nucleótidos de la dieta promueven la restauración de la función mitocondrial en el yeyuno y en el íleon en animales con diarrea crónica. Además, estudios recientes han puesto de manifiesto que la presencia de nucleósidos en el medio de cultivo de células embrionarias de intestino de rata IEC-6 disminuye la expresión del gen RHO. Este gen codifica una GTP-asa cuya expresión es elevada en células intestinales poco diferenciadas. Estudios similares llevados a cabo con hepatocitos fetales y de adultos indican que la guanosina y la uridina son absorbidos e incorporados rápidamente al *pool* intracelular de nucleótidos y modulan la expresión de genes implicados en la matriz extracelular.

Otros estudios realizados en animales de experimentación utilizando nutrición parenteral demuestran que mezclas de nucleótidos y nucleósidos muestran una mayor eficacia que la glutamina en el mantenimiento de la estructura y funcionalidad de la mucosa intestinal.

Todos estos trabajos sugieren que los nucleótidos de la dieta pueden ser importantes para el crecimiento y desarrollo intestinal en la vida posnatal temprana, y de forma particular después de una agresión o lesión tisular. La inclusión de nucleósidos y/o nucleótidos en nutrición clínica tanto enteral como parenteral debe ser considerada en el futuro ya que podría condicionar una mejor recuperación del intestino en pacientes con diversos síndromes gastroenterológicos y que cursan con afectación grave del intestino delgado.

Por lo que se refiere a los efectos de los nucleótidos sobre el hígado, usando un modelo de ratas hepatectomizadas al 70% se ha demostrado que una mezcla de nucleótidos y nucleósidos administrados por vía parenteral produce un aumento en la actividad mitogénica en las células hepáticas durante la regeneración, y ello conlleva un mejor balance nitrogenado. Estos estudios sugieren que la suplementación exógena de purinas y pirimidinas podría aumentar la proliferación celular y favorecer la recuperación después de una agresión. No obstante, se ha descrito que la suplementación de nucleósidos a los medios de cultivo provoca un aumento en la proliferación de cultivos primarios de hepatocitos y células de hepatoma. Sin embargo, estudios más recientes han demostrado que tanto en hepatocitos fetales como de animales adultos, la presencia de nucleósidos no aumenta la proliferación celular sino que provoca cambios en la diferenciación, aumentando la expresión de algunos genes como la albúmina y de otras proteínas implicadas en la matriz extracelular como laminina y fibronectina.

Por otra parte, utilizando un modelo de cirrosis experimental inducida por tioacetamida, se ha documentado que los nucleótidos de la dieta influencian favorablemente la recuperación disminuyendo la fibrosis hepática. Este efecto se debe a una disminución de la síntesis de colágeno maduro, debido a una menor actividad de la enzima prolilhidroxilasa, y al aumento de la actividad colagenasa provocada por una menor expresión del gen correspondiente al inhibidor de metaloproteasa 1 (TIMP-1). Asimismo, parece que los nucleótidos de la dieta favorecen la producción y secreción de fosfolípidos por el hígado, contribuyendo a limitar la esteatosis. Además, y al igual que ocurre con el intestino, la presencia de nucleótidos en la dieta condiciona un aumento en la expresión de los transportadores de nucleósidos, así como del RNA ribosómico y del retículo endoplásmico rugoso, lo que indica que los nucleótidos favorecen de manera general la biosíntesis proteica.

4.3.2. Metabolismo lipídico

La suplementación de nucleótidos a una fórmula láctea estándar, en cantidad cualitativa y cuantitativamente similar a la de la leche humana, aumenta los niveles de colesterol-HDL en lactantes, aproximándose a los encontrados en niños alimentados con leche humana. Asimismo, los nucleótidos de la dieta dan lugar a un aumento de la apoproteína A-IV en recién nacidos prematuros; esta proteína, que forma parte de las HDL, es de origen intestinal exclusivo e interviene como activador de la lecitin-colesterol acil transferasa (LCAT) junto a la apoproteína A-I (*ver Capítulo 1.11*). Por otra parte,

se ha comprobado que la actividad LCAT aumenta en el periodo neonatal como consecuencia de la ingesta de nucleótidos.

Además, en diferentes estudios, realizados tanto en niños recién nacidos pretérmino como a término, se ha podido demostrar que los nucleótidos de la dieta influencian la composición de ácidos grasos de las fracciones lipídicas del plasma y de las membranas celulares. Así, los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de cadena larga, tanto de la serie n-6 como n-3, están significativamente aumentados en los fosfolípidos y ésteres de colesterol plasmáticos de niños alimentados con una fórmula suplementada con nucleótidos. Resultados similares se han obtenido para los fosfolípidos de los eritrocitos y de células de la mucosa bucal. Los ácidos grasos más afectados son 20:3 y 20:4, para la serie n-6, y 22:6 para la serie n-3. Estos estudios sugieren que, en el periodo perinatal, los nucleótidos de la dieta pueden influenciar la síntesis hepática o intestinal de AGPI, posiblemente modulando la actividad de la -6 ácido graso desaturasa hepática.

4.3.3. Microbiota intestinal

Es bien conocido que la microbiota intestinal de niños alimentados con leche materna es diferente de la de los niños alimentados con fórmulas lácteas. Los primeros tienen un alto porcentaje de bifidobacterias en sus heces y bajos niveles de enterobacterias. Por el contrario, los últimos presentan un alto número de enterobacterias, enterococos y clostridios, así como niveles relativamente bajos de bifldobacterias. Las bifidobacterias ejercen una función fisiológica positiva, en el sentido de que su actividad biológica provoca una disminución del pH intestinal, lo que limita el crecimiento de otras poblaciones bacterianas, algunas de ellas potencialmente patógenas.

Los nucleótidos presentes en la leche humana afectan el microambiente gastrointestinal de los lactantes. Así, se ha demostrado que la adición de nucleótidos a fórmulas infantiles da lugar al incremento de bifidobacterias y a la disminución de enterobacterias en las heces. Además, varios estudios realizados tanto en países en vías de desarrollo como en países desarrollados han demostrado que la ingesta de una fórmula láctea suplementada con nucleótidos en cantidad y calidad equivalentes a las de la leche humana da lugar a una menor incidencia y duración de diarrea aguda en niños lactantes. Este efecto puede estar relacionado en parte con los cambios asociados a la microbiota intestinal, mediados por los nucleótidos de la dieta, aunque también puede estar influenciado por la modulación de la respuesta inmune del sistema linfoide asociado a las mucosas, como se indica a continuación.

4.3.4. Sistema inmunológico

La actividad de los nucleótidos en el intestino y en el sistema inmunológico se ha considerado tradicionalmente como dos hechos separados. Sin embargo, actualmente es bien conocido que alrededor del 30% de las células intestinales son células del sistema inmune e incluso los propios enterocitos pueden actuar como células presentadoras de antígenos, produciendo citokinas inmunomoduladoras (*ver Capítulo 1.36*).

Actualmente, se conoce que los nucleótidos de la dieta influencian tanto las respuestas inmunes a nivel sistémico como a nivel del sistema linfoide asociado a la mucosa intestinal. En particular, intervienen en la maduración, activación y proliferación de los linfocitos, estimulan la función fagocítica de los macrófagos, y modulan la respuesta de hipersensibilidad retardada, las respuestas a injertos y tumores, la producción de inmunoglobulinas y la respuesta a la infección.

4.3.4.1. Efectos de los nucleótidos sobre la proliferación, maduración y activación de los linfocitos

Existen numerosas evidencias que demuestran que los nucleótidos de la dieta aumentan la respuesta proliferativa de las células T frente a mitógenos [fitohemaglutinina A (PHA), concanavalina A (ConA), mitógeno de *pokeweed* (PWM)]. En modelos animales estimulados con células esplénicas alogénicas, los nucleótidos de la dieta aumentan la respuesta linfoproliferativa, especialmente durante la recuperación de la desnutrición proteico-energética. También se ha demostrado que los ratones Balb/c y DBA/2 presentan un aumento en la respuesta blastogénica de los ganglios linfáticos poplíteos en respuesta a antígenos, alógenos y mitógenos cuando son alimentados con una dieta suplementada con una mezcla de nucleótidos.

Los nucleótidos exógenos se necesitan para mantener la actividad de los linfocitos T cooperadores (CD4) y estimulan la proliferación de células T, pero no B, en respuesta a aloantígenos y mitógenos. La actividad desoxinucleotidil transferasa (TdT), un indicador de la inmadurez de los linfocitos, es mayor en ratones que toman una dieta deficiente en nucleótidos; asimismo, el porcentaje de células del timo y del bazo que expresan esta enzima es menor en los animales que toman una dieta suplementada con adenina, uracilo o RNA, lo que sugiere que los nucleótidos de la dieta modulan la maduración de las células linfoides.

Se ha sugerido que los nucleótidos pueden favorecer el equilibrio de la diferenciación de las células T hacia el tipo Th2, que están implicadas en la respuesta de las células B y en la supresión de reacciones proinflamatorias inducidas por las células Th1.

4.3.4.2. Nucleótidos y subpoblaciones linfocitarias

El efecto de los nucleótidos sobre las poblaciones linfocitarias en los recién nacidos es escaso; tan sólo se ha observado un aumento en la población de células CD4 a los 10 días de vida en recién nacidos pretérmino. Sin embargo, parece que los nucleótidos tienen un efecto modulador de la expresión de marcadores linfocitarios y de citokinas en las placas de Peyer, los linfocitos intraepiteliales y los linfocitos de la lámina propia en ratones al destete. Asimismo, los nucleótidos influencian la maduración de las células B1 peritoneales en ratones al destete, lo que puede explicar su acción en la producción de inmunoglobulinas, especialmente IgA secretoria. Las células B1 constituyen la población fundamental de células B en el peritoneo, y son precursoras de un amplio número de células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas en el suero y en el intestino (*ver Capítulo 1.36*). No obstante, hasta ahora los efectos de los nucleótidos de la dieta sobre el sistema inmune intestinal en los humanos son totalmente desconocidos.

Como se ha indicado anteriormente, los nucleótidos de la dieta influencian la proliferación y la maduración de los enterocitos tanto al destete como en la vida adulta; y como éstos están implicados en la respuesta inmune, se puede inferir que los nucleótidos de la dieta pueden contribuir a la maduración del sistema linfoide asociado al intestino. Así, la presencia de nucleótidos incrementa la producción por enterocitos IEC-6 de algunas interleukinas (IL), como la IL-2 y la IL-8, en respuesta a la presencia de IL-1.

4.3.4.3. Modulación de la actividad fagocítica de los macrófagos por los nucleótidos de la dieta

Se ha descrito que los nucleótidos de la dieta conducen a un aumento de la fagocitosis en ratones infectados con *S. aureus*. Asimismo, los nucleótidos parecen aumentar la interacción de los macrófagos y de las células T, lo que explicaría la mayor susceptibilidad de los ratones alimentados con una dieta exenta de nucleótidos a la infección por *Candida*.

4.3.4.4. Modulación por nucleótidos de la hipersensibilidad retardada y respuesta a injertos y tumores

En animales de experimentación la restricción de nucleótidos en la dieta conduce a una respuesta disminuida en la hipersensibilidad cutánea retardada, supervivencia de trasplantes de tejidos y respuesta a sepsis por estafilococos o *Candida*. Además, los nucleótidos revierten la inmunosupresión provocada por la desnutrición proteico-energética y aumentan la actividad de las células ***N****atural* ***K****iller* (NK) tanto en niños recién nacidos como en ratones.

4.3.4.5. Modulación de la producción de inmunoglobulinas por nucleótidos

Existe poca información sobre la influencia de los nucleótidos en la función de las células B *in vivo*. No obstante, en los últimos años varios estudios han demostrado que tanto nucleótidos individuales como mezclas de ellos provocan un aumento en la producción de inmunoglobulinas en recién nacidos humanos y en animales de experimentación.

El número de células formadoras de placas contra hematíes de carnero en ratones aumenta cuando estos son alimentados con una dieta rica en nucleótidos UMP y AMP. Asimismo, los nucleótidos incrementan la producción de Ig G específica frente a α-caseína y β-lactoglobulina en recién nacidos pretérmino y dan lugar a un incremento en

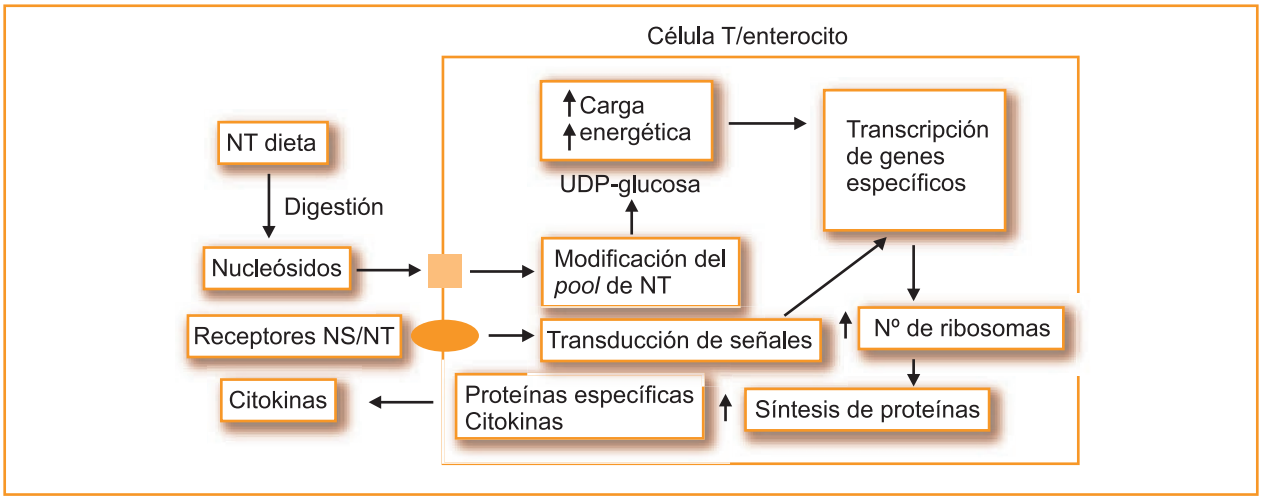


Figura 20. *Mecanismo de acción de los nucleótidos de la dieta en el sistema inmunológico.*

los niveles totales de IgM e IgA durante los tres primeros meses de vida. Asimismo, la incorporación de nucleótidos a fórmulas infantiles en niveles similares a los de la leche humana provoca un aumento de las IgG específicas frente a *H. influenzae* tipo b en recién nacidos normales, aunque no se han observado efectos en los niveles de IgG frente a las vacunas de la poliomielitis y del tétanos.

Es difícil establecer si un aumento de los niveles de inmunoglobulinas en los lactantes se traduce en una mayor protección antigénica. No obstante, se ha demostrado una menor incidencia de diarrea aguda en lactantes alimentados con fórmulas lácteas suplementadas con nucleótidos, tanto en países en vías de desarrollo como en países desarrollados. Asimismo, se ha descrito una menor incidencia de enfermedad respiratoria de vías altas en niños con desnutrición proteico-energética.

Aunque se desconocen en gran medida los mecanismos por los que los nucleótidos de la dieta influencian la producción de inmunoglobulinas, dado que los nucleótidos modulan la biosíntesis proteica y pueden ejercer su acción a través de la transducción de señales de membrana por interacción con receptores, se puede inferir la consiguiente modificación en la expresión de genes, especialmente de citokinas intestinales **(Figura 20)**. Como se ha comentado con anterioridad, los nucleótidos de la dieta aumentan la proporción de células B1 peritoneales, especialmente, del tipo B1a. Éste parece un mecanismo probable por el que los nucleótidos de la dieta modulan la producción de inmunoglobulinas a nivel sistémico e intestinal.

5. Resumen

- Los nucleótidos son sustancias constituidas por una base púrica o pirimidínica, un azúcar (ribosa o desoxirribosa) y uno o más grupos fosfato. Son elementos fundamentales para las células, participando en muchos procesos de biosíntesis, además de en la formación de ácidos nucleicos, así como en procesos de señalización tanto intracelular como extracelular.

- Las células utilizan gran cantidad de nucleótidos, especialmente en condiciones de crecimiento. Los nucleótidos pueden sintetizarse endógenamente *de novo*, con gran gasto energético, u obtenerse a partir de la recuperación de bases y nucleósidos procedentes de la degradación de ácidos nucleicos o de la dieta.

- En la biosíntesis *de novo*, tanto de nucleótidos púricos como pirimidínicos, las fuentes de carbono y de nitrógeno son algunos aminoácidos, como la glutamina, el aspartato y la glicina, y otros compuestos sencillos como el bicarbonato, así como grupos metilo procedentes de derivados activos del folato. En el caso de los nucleótidos pirimidínicos, se sintetiza primero la nucleobase y posteriormente se añade el resto de azúcar activado, mientras que en los nucleótidos púricos la incorporación de la ribosa ocurre en una fase inicial y posteriormente se sintetiza la parte correspondiente a la nucleobase. Los desoxirribonucleótidos se obtienen por reducción de los ribonucleótidos difosfato.

- Existen muchas interconversiones entre nucleótidos, nucleósidos y nucleobases y el metabolismo supone un todo integrado y muy regulado. Se han descrito algunas patologías por deficiencia de enzimas que participan en el metabolismo de los nucleótidos que afectan a la actividad neurológica, producen inmunodeficiencia, o causan hiperuricemia. No existen depósitos de nucleótidos, y el exceso se elimina como úrico y otros compuestos. La hiperuricemia primaria o inducida por la dieta o algunas patologías secundarias puede originar cálculos renales y, en sujetos susceptibles, artritis gotosa.

- Los nucleótidos de la dieta son digeridos en el tramo proximal del intestino delgado y se absorben mediante transportadores especializados, tanto por difusión como por transporte activo. Prácticamente todas las células disponen de transportadores, lo que les permite utilizar nucleósidos y bases exógenas para la síntesis de nucleótidos. Estos transportadores pueden utilizarse para vehiculizar análogos de nucleótidos con propiedades antitumorales.

- Los nucleótidos de la dieta influencian el metabolismo de las lipoproteínas y de los ácidos grasos poliinsaturados, así como la microbiota intestinal, especialmente durante el periodo perinatal. Asimismo, promueven el crecimiento y diferenciación de células en tejidos de recambio rápido tales como el intestino, el sistema inmunológico y la médula ósea.

- Los nucleótidos de la dieta influencian la maduración, activación y proliferación de los linfocitos. Asimismo, afectan las subpoblaciones linfocitarias tanto en el intestino como en la sangre. Por otra parte, están implicados en al aumento de la fagocitosis y de la hipersensibilidad retardada, así como en la respuesta a injertos y tumores. Además, contribuyen a la respuesta mediada por inmunoglobulinas en la vida temprana, teniendo un efecto positivo frente a la infección. Así, la incidencia y duración de la diarrea es menor en los lactantes que toman fórmulas lácteas suplementadas con nucleótidos y el balance nitrogenado mejora en pacientes con desnutrición proteico-energética y con sepsis y traumatismos Los nucleótidos de la dieta modulan la expresión génica de varias citokinas tanto *in vitro* como *in vivo*.

6. Bibliografía

Boarder MR, Hourani SMO. The regulation of vascular function by P2 receptors: multiple sites and multiple receptors. Trends in Pharmacological Sciences 1998; 19: 99-107.
Excelente revisión sobre los tipos, estructura y function de los receptores de nucleótidos

Gil A. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. Eur J Clin Nutr 2002; 56; Suppl 3: S1-4.
Revisión actualizada sobre las funciones de los nucleótidos de la dieta en la regulación del sistema inmunológico.

Gil A, Uauy R. Nutritional and Biological Significance of Dietary Nucleotides and Nucleic Acids. Abbott Laboratories, 1996.
Libro especializado multiautor en el que se detallan la composición y el papel nutricional de los nucleótidos presentes en los alimentos.

Murray R, Granner D, Mayes P, Rodwell V. Harper´s Illustrated Biochemistry, 26th ed. Lange Medical Books/McGraw-Hill. New York, 2003.
Libro muy completo y actualizado, que relaciona la Bioquímica humana con las alteraciones patológicas y la Medicina molecular. En él se describe de forma detallada el metabolismo de nucleótidos.

Sánchez-Pozo A, Gil A. Nucleotides as semiessential nutritional components. Br J Nutr 2002; 87: Suppl 1: S135-7.
Revisión sobre las funciones de los nucleótidos de la dieta, especialmente sobre el crecimiento y desarrollo tisular.

Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle S. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. McGraw-Hill, 1995.
Libro de excepcional interés en el que se analizan con detalle todas las enfermedades asociadas al metabolismo de los nucleótidos.

Stone TW, Simmonds HA, Purines: Basic and Clinical Aspects. Kluwer, 1991.
Capítulo de libro en el que se detallan ciertos aspectos del metabolismo de los nucleótidos, con énfasis en los sistemas de transporte.

Stryer L, Berg JM, Tymoczko JL. Bioquímica, 5ª ed. Reverté. Barcelona, 2003.
Texto clásico de Bioquímica general, especialmente destacable por la claridad expositiva y la amenidad de su lectura, en el que se describe detalladamente el metabolismo de los nucleótidos.

7. Enlaces web

- web.indstate.edu/thcme/ mwking/nucleotide-metabolism.html
- www.med.unibs.it/~marchesi/nucmetab.html
- www.med.unibs.it/~marchesi/purinedefects.html
- www.bmb.leeds.ac.uk/illingworth/metabol/nucleo.htm
- www.amg.gda.pl/~essppmm/metabolism.html
- www.med.uiuc.edu/m1/biochemistry/ TA%20reviews/chap29.htm
- oregonstate.edu/instruction/ bb451/spring2004/ntmetab.htmlneo.html
- www.biochem.emory.edu/classes/ BAHS501/2003/LectureNotes/49.ppt

1.17. Relaciones metabólicas tisulares en el ciclo de ayuno y realimentación

Olga Martínez Augustin ■ Víctor Puerta Fernández ■
María Dolores Suárez Ortega

Capítulo 1.17.

Relaciones metabólicas tisulares en el ciclo de ayuno y realimentación

1. Introducción

2. Metabolismo de los tejidos y órganos

2.1. Hígado

2.2. Intestino

2.3. Tejido adiposo

2.4. Músculo

2.4.1. Músculo esquelético

2.4.2. Músculo cardiaco

2.5. Cerebro

2.6. Riñón

2.7. Eritrocitos

2.8. Leucocitos

2.9. Ojo

3. Regulación de la glucemia

3.1. Regulación hormonal

3.2. Papel del PPAR-γ en el control de la glucemia

4. Relaciones metabólicas tisulares en distintas situaciones

4.1. Periodo posprandial

4.1.1. Destino de la glucosa

4.1.2. Destino de los aminoácidos

4.1.3. Destino de los lípidos

4.2. Periodo postabsortivo (ayuno nocturno)

4.3. Ayuno temprano (1-3 días de ayuno)

4.3.1. Lipasa sensible a hormonas

4.3.2. Lipoproteína lipasa

4.3.3. Proteínas desacoplantes

4.4. Ayuno prolongado (a partir del 4º día)

4.5. Realimentación

4.5.1. Realimentación tras el ayuno nocturno

4.5.2. Realimentación tras el ayuno prolongado

5. Resumen

6. Bibliografía

7. Enlaces web

Objetivos

- Comprender la importancia del control hormonal en el mantenimiento de la homeostasis en el organismo y en la interrelación tisular.
- Conocer las diferencias metabólicas entre los distintos tejidos.
- Analizar el papel central del hígado en el control de la glucemia.
- Comprender la función de las hormonas en la regulación de la glucemia.
- Conocer la relación que existe entre el metabolismo de los ácidos grasos y la glucosa en el músculo esquelético.
- Conocer las adaptaciones metabólicas que se producen en el organismo humano en el estado postabsortivo.
- Comprender las adaptaciones metabólicas en el ayuno temprano.
- Conocer las adaptaciones metabólicas en el ayuno prolongado.
- Analizar las repuestas metabólicas en la realimentación.

1. Introducción

Para poder conocer el funcionamiento del ser humano, como organismo complejo multicelular, no es suficiente comprender todas y cada una de las rutas metabólicas y su regulación individual, sino que es necesario conocer cómo funcionan dichas rutas en su conjunto.

En todas las células funcionan las rutas centrales del metabolismo que proporcionan energía. Pero, además, cada órgano, tejido o célula tiene una función diferente, existe una especialización en cada uno de ellos y, por lo tanto, tienen unos requerimientos energéticos y unos patrones metabólicos característicos.

El músculo esquelético genera ATP para llevar a cabo la contracción muscular, y en el músculo cardiaco este aporte de energía debe ser continuo. El tejido adiposo almacena y degrada triacilgliceroles, para aportar ácidos grasos como combustible a distintos tejidos. El cerebro debe obtener energía para mantener los potenciales de membrana que son esenciales para transmitir señales eléctricas. El riñón debe obtener ATP para el trabajo osmótico de eliminación de sustancias de desecho en contra de un gradiente de concentración para la excreción. El hígado tiene un papel fundamental de procesamiento y distribución en el metabolismo, y proporciona a los demás órganos y tejidos la mezcla de nutrientes adecuados a través del torrente sanguíneo. Por ello, a todos los demás tejidos se les denomina "extrahepáticos" o "periféricos".

En el organismo humano existe una continua interrelación entre los distintos órganos y tejidos para que, aun cuando cada uno de ellos tiene una anatomía y un metabolismo diferente, de acuerdo a la función que desarrolla, exista coordinación entre los procesos. Las hormonas integran y coordinan las actividades metabólicas de los distintos tejidos de manera que regulan la distribución de sustratos energéticos a cada órgano en las distintas situaciones fisiológicas.

Las necesidades de energía varían según el grado de esfuerzo, el tiempo transcurrido desde la última ingestión de alimento y el tipo de alimento consumido. Los principales órganos que intervienen en el metabolismo de los combustibles presentan un perfil de enzimas adaptado a sus funciones específicas. En este Capítulo se estudian las características metabólicas de los distintos tejidos y órganos, así como las adaptaciones metabólicas al ayuno, en sus diferentes etapas y en la realimentación.

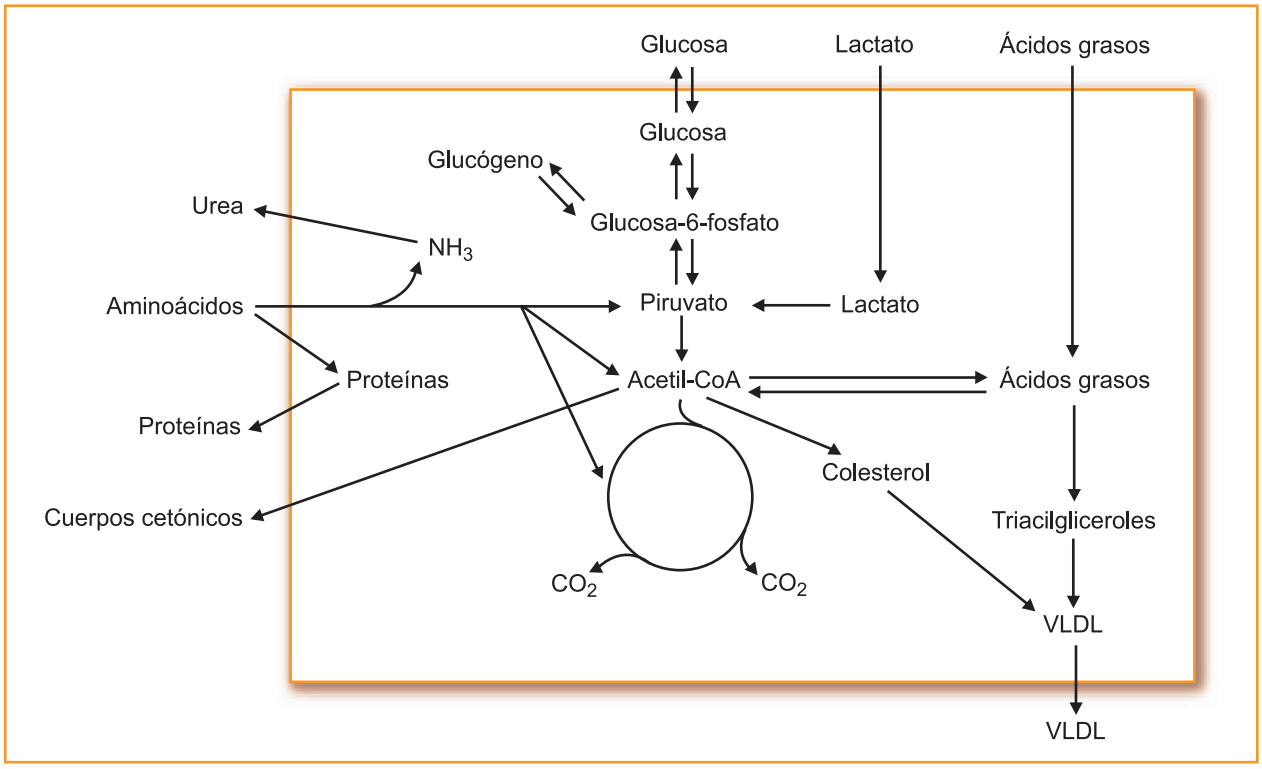


Figura 1. *Metabolismo del hígado.*

2. Metabolismo de los tejidos y órganos

Teniendo en cuenta las diferentes funciones de cada uno de los tejidos y órganos, es necesario considerar las peculiaridades y características de cada uno de ellos, así como las rutas por las que obtienen su energía.

2.1. Hígado

De entre todos los órganos, es el hígado el que tiene un papel fundamental en la regulación del metabolismo de glúcidos, lípidos y aminoácidos. Controla la captación y liberación de compuestos para mantener la homeostasis. Además, no sólo sintetiza las moléculas que le son necesarias, sino que se encarga de la síntesis de combustibles para otros órganos y tejidos. Obtiene su energía de la degradación aerobia de aminoácidos, ácidos grasos y glucosa, generalmente en este orden **(Figura 1)**.

En el hígado se pueden distinguir dos tipos de hepatocitos, periportales y perivenosos, los cuales difieren en su estructura y función. Las diferencias son especialmente importantes con relación a sus capacidades metabólicas, que pueden deberse a su localización dentro del hígado, pero también a la diferente expresión de genes. Así, por ejemplo, la glutamina sintetasa sólo se expresa en los hepatocitos perivenosos situados junto a la vena central. Los hepatocitos periportales entran más rápidamente en contacto con los nutrientes y están más oxigenados, por lo que llevan a cabo las actividades de oxidación.

En los hepatocitos periportales se realizan la liberación de glucosa, la síntesis de glucosa a partir de glucógeno, la síntesis de glucógeno a partir de lactato, la gluconeogénesis, la degradación de los ácidos grasos, el ciclo de Krebs, la cadena respiratoria, la utilización y la degradación de los aminoácidos y la ureogénesis a partir de aminoácidos. En los hepatocitos perivenosos se llevan a cabo la captación de glucosa, la síntesis de glucógeno a partir de glucosa, la glucólisis, la cetogénesis, la lipogénesis, el metabolismo de xenobióticos, la síntesis de glutamina y la ureogénesis a partir de amonio. A pesar de existir estas claras diferencias entre los

dos tipos de hepatocitos, no se suele hacer referencia en cada una de las rutas al tipo de hepatocito específico que está implicado en la misma.

De entre las funciones del hígado una de las más importantes es la del mantenimiento de la glucemia, controlando y manteniendo los niveles de glucosa sanguínea.

La glucosa entra al hígado por el transportador GLUT2 y posteriormente es fosforilada por la glucokinasa que se induce por la insulina. El transportador hepático de glucosa tiene una K_m muy alta, por lo que sólo permite su entrada cuando su concentración está elevada en sangre. En estas condiciones el nivel de insulina está elevado. Los otros monosacáridos, en especial fructosa y galactosa, se interconvierten en el hígado en glucosa o en intermediarios de las vías metabólicas principales.

La glucosa-6-fosfato puede seguir diferentes rutas, dependiendo de las necesidades metabólicas del organismo. La ruta seguida depende de la acción de varias enzimas reguladoras y de la regulación hormonal que afecta a la actividad y/o a la síntesis de enzimas.

La glucosa-6-fosfato puede ser convertida en glucógeno para almacenarse y servir de reserva de glucosa cuando los niveles en sangre disminuyen. El exceso de glucosa-6-fosfato que no se utiliza se convierte en acetil-CoA que suministra el esqueleto carbonado para la síntesis de ácidos grasos. La insulina activa las enzimas reguladoras de la vía glucolítica y la piruvato deshidrogenasa. También la glucosa, siguiendo la etapa oxidativa de la vía de las pentosas fosfato, suministra poder reductor en forma de NADPH para dicha síntesis.

Cuando los niveles de glucosa sanguínea disminuyen, se libera glucagón, y el hígado libera glucosa a la sangre mediante la degradación de glucógeno o mediante la gluconeogénesis a partir de precursores no glucídicos tales como lactato y alanina, procedentes del músculo, y glicerol procedente del tejido adiposo.

Cuando el glucógeno hepático se agota, lo que sucede hacia las 24 horas de ayuno, la gluconeogénesis se convierte en el único mecanismo para producir glucosa en el hígado. La gluconeogénesis hepática, y en algún grado la renal, juegan un papel importante en el mantenimiento de la glucosa sanguínea durante el ayuno, llegando a ser crítica entre las 18 y las 24 horas.

La regulación de las enzimas gluconeogénicas a nivel transcripcional es importante, y se ha demostrado que en el ayuno prolongado, CREBP (***C**yclic AMP **R**esponse **E**lement **B**inding **P**rotein*, proteína de unión al CRE, elemento de respuesta a AMPc en el DNA) potencia la expresión de genes gluconeogénicos no de forma directa, sino induciendo la expresión coactivador del receptor nuclear PGC-1α (***P**eroxisome **P**roliferative **A**ctivated **R**eceptor-γ **C**oactivator*). PGC-1α es un coactivador de receptores nucleares y de otros factores de transcripción que puede estimular de forma importante la expresión de genes gluconeogénicos (fosfoenolpiruvato carboxikinasa y glucosa-6-fosfatasa) tanto en hepatocitos aislados como en el hígado de ratas normales. Para que se dé la transcripción de las enzimas gluconeogénicas, se requiere la interacción de PGC-1α con factores de transcripción de la clase FKHR (***F**or**kH**ead-**R**elated Protein*, FOXO1). La activación sólo es completa cuando PGC-1α actúa como coactivador, no sólo de FOXO1, sino también del receptor de glucocorticoides y del factor de transcripción HNF-4α. De esta forma, el glucagón y los glucocorticoides estimulan la gluconeogénesis hepática, en la que dos componentes tienen un papel fisiológico importante, el factor FOXO1 y el PGC-1α (*ver Capítulo 1.9*).

La glucosa-6-fosfatasa es la enzima que cataliza la desfosforilación de la glucosa-6-fosfato que se origina en la degradación del glucógeno y en la última etapa de la gluconeogénesis. Dado que la glucosa-6-fosfatasa sólo existe en el hígado y en la corteza renal, sólo éstos pueden liberar glucosa a la sangre para que sea distribuida a los tejidos periféricos.

Los aminoácidos que llegan al hígado pueden ser utilizados para la síntesis de proteínas plasmáticas y las propias enzimas y proteínas hepáticas. Otros aminoácidos que llegan al hígado salen a la circulación para ser llevados a otros tejidos para la síntesis de sus propias proteínas. Sólo los aminoácidos que llegan en exceso, bien de la dieta o de la degradación de proteínas de los tejidos periféricos, se degradan para la obtención de energía o de glucosa, y su nitrógeno se convierte en urea para su excreción urinaria.

El hígado es el tejido en el que se oxidan la mayoría de los ácidos grasos. Estos ácidos grasos pueden llegar al hígado como ácidos grasos libres o ser captados de las lipoproteínas ricas en triacil-

gliceroles y ésteres de colesterol. La oxidación de estos ácidos grasos conduce a la formación de acetil-CoA, que puede oxidarse o convertirse en cuerpos cetónicos, acetoacetato y β-hidroxibutirato. Los cuerpos cetónicos se forman en el hígado, el cual no los puede utilizar, y los envía a la sangre para que puedan servise de ellos otros órganos y tejidos, como el cerebro, que los utiliza en el ayuno, y el músculo esquelético.

Los ácidos grasos pueden esterificarse para formar triacilgliceroles y fosfolípidos, que se unirán a apoproteínas, originando VLDL, que serán exportadas. El balance entre la oxidación de los ácidos grasos y su esterificación está regulado por la insulina. La insulina estimula la formación de malonil-CoA, que inhibe a la carnitina-palmitoil-transferasa I y, con ello, la entrada de los acil-CoA al interior de la mitocondria para su oxidación. Si la insulina está baja, se produce la entrada de los acil-CoA a la mitocondria para su degradación.

También los ácidos grasos que llegan al hígado, en especial los insaturados, se incorporan a los fosfolípidos de las membranas del retículo endoplásmico. Estos ácidos grasos pueden modificarse por subsiguientes reacciones de instauración y elongación, para originar ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

2.2. Intestino

La función del intestino es la absorción de nutrientes del tracto gastrointestinal, y tiene unos requerimientos de energía específicos. En el intestino hay un rápido recambio celular, especialmente en el intestino delgado, por lo que requiere el suministro de aminoácidos para la biosíntesis de proteínas y de nucleótidos para la formación de ácidos nucleicos. También se requiere energía para la absorción de nutrientes mediante transporte activo. El mayor combustible metabólico del intestino delgado es la glutamina, que se oxida parcialmente para la obtención de ATP y, al mismo tiempo, sirve como precursor para la síntesis de purinas y pirimidinas.

En las células del colon la energía se obtiene, en gran parte, de la degradación oxidativa de los ácidos de cadena corta: butirato, propionato, isobutirato y acetato. Estos ácidos se obtienen del tracto intestinal, en el que se han producido por las bacterias intestinales en la fermentación de los productos no absorbidos. De esta manera, se aprovechan estos compuestos que, de otra forma, serían eliminados. Si se producen en una cantidad excesiva, pasarán a la circulación sanguínea para ser utilizados por el hígado. Los colonocitos pueden sintetizar cuerpos cetónicos a partir de estos ácidos y verterlos a la sangre para ser utilizados como combustibles por los tejidos periféricos.

2.3. Tejido adiposo

Existen dos tipos de tejido adiposo: blanco y marrón. El tejido adiposo marrón es muy rico en mitocondrias y su función es la de producir calor por la degradación de los ácidos grasos. Tiene un papel importante en animales pequeños, especialmente al nacer, y en animales al despertar de la hibernación, pero su papel en adultos no es muy importante. El tejido adiposo blanco es el principal reservorio de energía del organismo humano en forma de triacilgliceroles. Los adipocitos efectúan una glucólisis muy activa y oxidan los ácidos grasos y piruvato a través del ciclo de Krebs para obtener energía **(Figura 2)**.

Para que los adipocitos puedan sintetizar los triacilgliceroles, será necesaria la degradación de glucosa, lo que sucede cuando hay una alta ingesta de glúcidos. La glucosa en su oxidación puede proporcionar acetil-CoA a través de la glucólisis y la descarboxilación oxidativa del piruvato. Asimismo, puede seguir las etapas oxidativas de la vía de las pentosas fosfato y suministrar NADPH como reductor en la biosíntesis de ácidos grasos. Por otra parte, la glucosa se degrada hasta dihidroxiacetona-fosfato y ésta se reduce por la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa y origina glicerol-fosfato que se esterifica con los acil-CoA y da lugar a triacilgliceroles que se almacenan. Ésta es la forma por la que los adipocitos pueden obtener glicerol-fosfato, puesto que carecen prácticamente de glicerol kinasa para poder fosforilar el glicerol que se origina en el metabolismo intravascular de las lipoproteínas.

Aunque en los adipocitos se sintetizan ácidos grasos, una parte muy importante de los que se almacenan como triacilgliceroles procede de los triacilgliceroles de los quilomicrones, que se han hidrolizado por la lipoproteína lipasa presente en los capilares del tejido adiposo. También contribu-

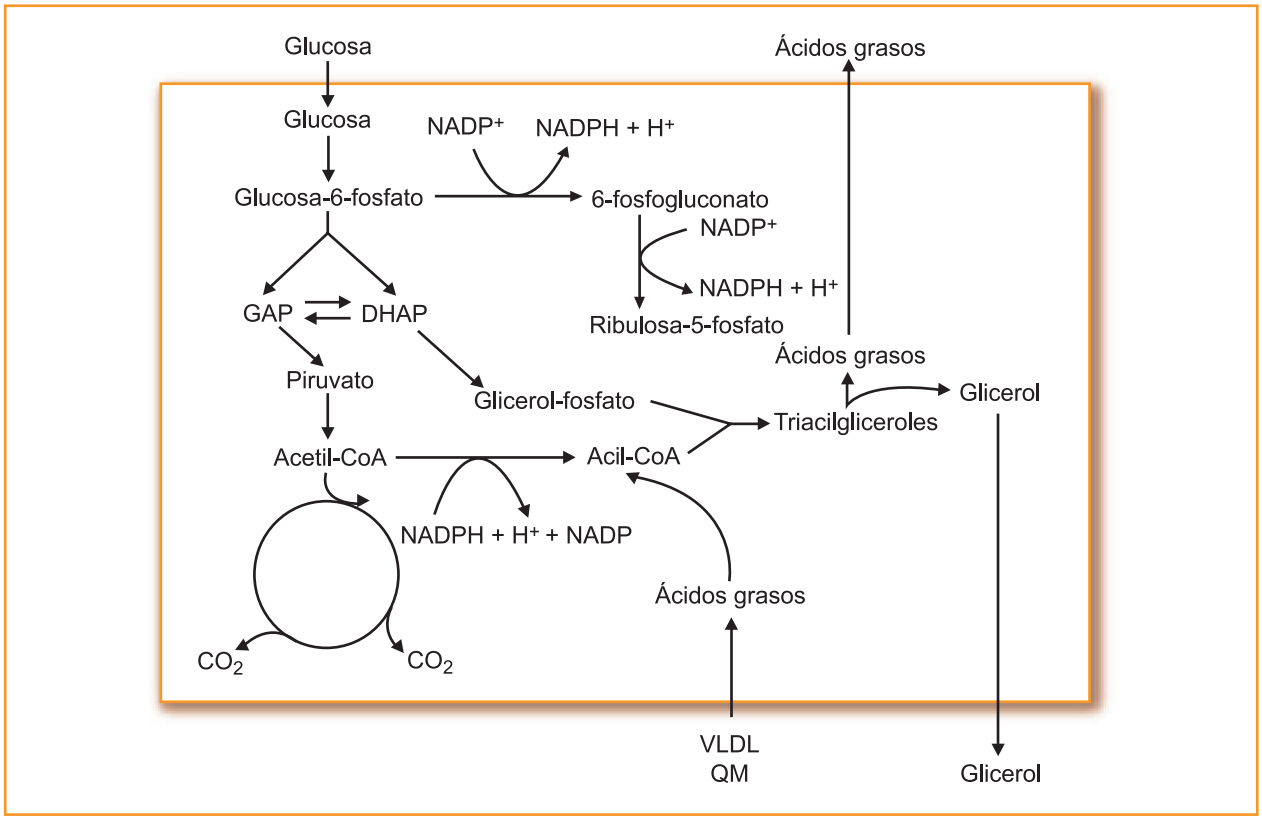


Figura 2. *Metabolismo del tejido adiposo.*

yen al aporte de ácidos grasos al tejido adiposo las VLDL, sintetizadas en el hígado, y que son sustrato de la lipoproteína lipasa, de la misma forma que los quilomicrones.

Tanto la síntesis como la degradación de triacilgliceroles están reguladas por hormonas (*ver Capítulo 1.12*). Su metabolismo está coordinado con el de otros tejidos, con los que participa en la respuesta del organismo a distintas situaciones fisiológicas o patológicas.

La insulina activa la biosíntesis de triacilgliceroles en el tejido adiposo, comenzando por activar la entrada de glucosa al promover la inclusión del transportador GLUT4 en la membrana plasmática de las células. Además, activa enzimas glucolíticas y lipogénicas.

La degradación de triacilgliceroles en tejido adiposo está catalizada por la lipasa sensible a hormonas que se activa por el glucagón y la adrenalina, a través del AMPc y la activación de la proteína kinasa A, lo que conduce a la fosforilación de la enzima. Esta activación tiene lugar en el ayuno y en situaciones de estrés. La insulina, al activar a la fosfodiesterasa desactiva la lipasa sensible a hormonas, siendo, por lo tanto, antilipolítica.

2.4. Músculo

2.4.1. Músculo esquelético

El metabolismo del músculo está especializado en la obtención de ATP para la contracción muscular de forma intermitente. Unas veces tiene que trabajar a su máxima capacidad en un corto espacio de tiempo como, por ejemplo, en una carrera de velocidad, y otras requiere un trabajo más prolongado, como es el caso de las carreras de maratón. El músculo esquelético puede utilizar diferentes combustibles metabólicos (glucosa, ácidos grasos y cuerpos cetónicos) para obtener energía y así llevar a cabo la contracción muscular.

Hay dos clases de tejido muscular que difieren en su función fisiológica y en la utilización de combustibles. El músculo de contracción lenta, también llamado rojo, que aunque proporciona una con-

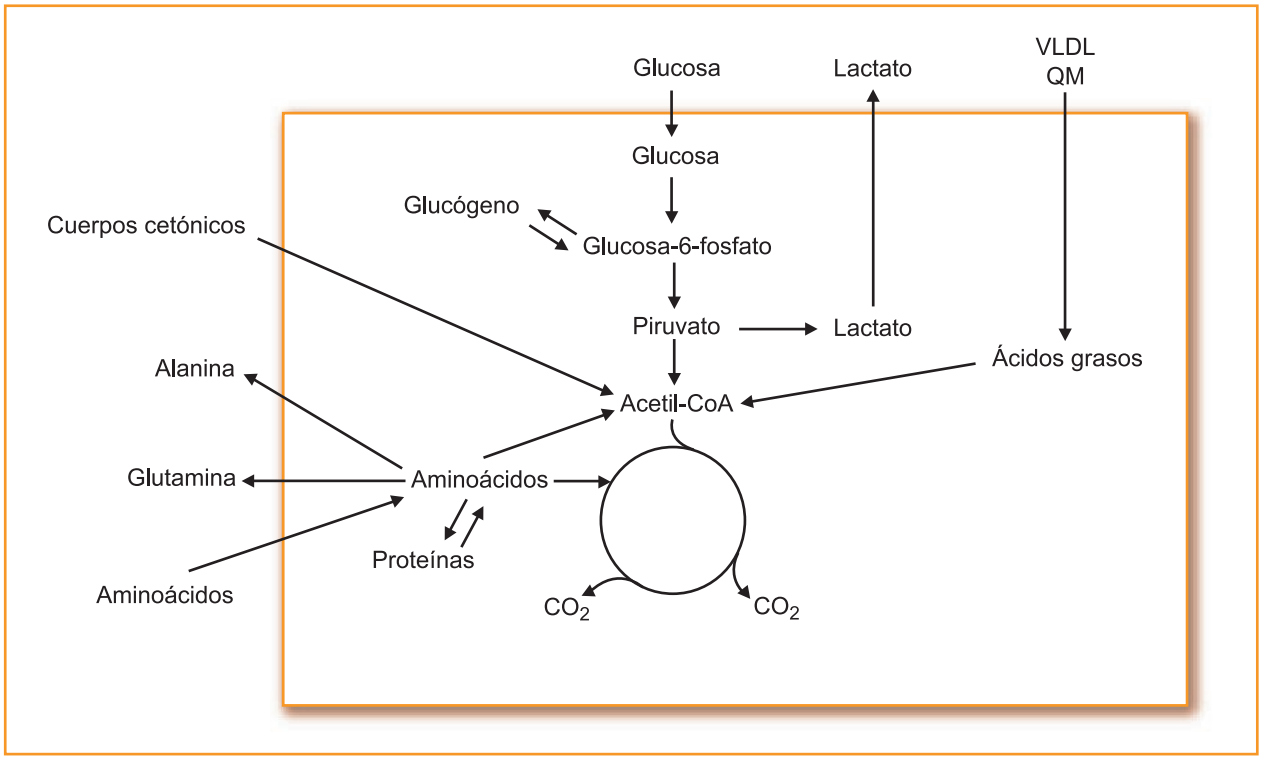


Figura 3. *Metabolismo del músculo esquelético.*

tracción relativamente lenta es muy resistente a la fatiga. Produce ATP por la fosforilación oxidativa, es muy rico en mitocondrias y está irrigado por una gran cantidad de vasos sanguíneos, que le suministran oxígeno para la respiración aerobia. Su color rojo se lo debe a la gran cantidad de citocromos de las mitocondrias y a la mioglobina.

El músculo de contracción rápida o músculo blanco tiene menos mitocondrias que el rojo, menor riego sanguíneo y puede desarrollar una contracción mayor y más rápida. Es más propenso a la fatiga, porque cuando está activo usa ATP a una velocidad mayor de la que lo puede reemplazar. Aunque hay un componente genético en la proporción de musculatura roja y blanca en cada individuo, con el entrenamiento la resistencia del músculo blanco se puede mejorar.

La glucosa se almacena en el músculo en el estado bien nutrido cuando la insulina está alta y, por lo tanto, el GLUT4 se encuentra en la membrana plasmática y la síntesis de glucógeno está activa. En el músculo en reposo se necesita poco ATP y se obtiene en las vías degradativas aerobias. Los combustibles metabólicos son, en reposo, los ácidos grasos que se oxidan completamente hasta CO_2 y H_2O y proporcionan una gran cantidad de energía **(Figura 3)**.

Al comienzo del ejercicio la demanda de ATP aumenta considerablemente y en estas condiciones el aporte de oxígeno y de combustibles metabólicos a través de la sangre no es suficiente. El músculo debe utilizar sus propios combustibles, que son la creatina-fosfato y el glucógeno. La creatina-fosfato supone una reserva energética limitada, que está ligada de forma reversible a la creatina, a través de la reacción catalizada por la creatina-fosfokinasa en una reacción reversible en la que participa el ATP. Cuando el músculo está en reposo, el ATP se utiliza para convertir la creatina en creatina fosfato. Al comienzo del ejercicio la reacción transcurre en el sentido de formación de ATP para los primeros segundos de la contracción muscular.

El estímulo para la degradación del glucógeno muscular no es inicialmente hormonal, que sería más lento, sino que se activa por regulación alostérica por el Ca^{++} que se libera del retículo sarcoplásmico (*ver Capítulo 1.9*). El glucógeno puede ser completamente oxidado, en un principio, gracias a la mioglobina y al pequeño volumen de

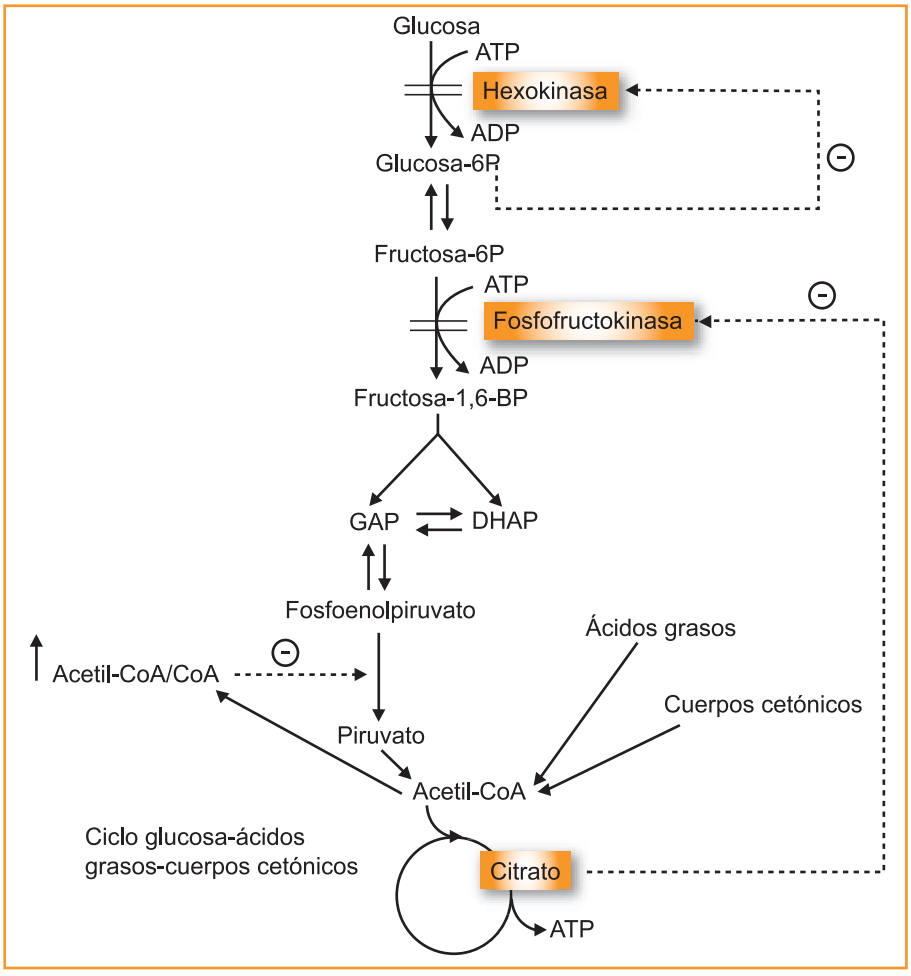


Figura 4. *Ciclo glucosa-ácidos grasos-cuerpos cetónicos.*

oxígeno disponible en el músculo. Sin embargo, la mayoría de la energía obtenida en los primeros minutos procede de la degradación anaerobia del glucógeno muscular hasta lactato. Puesto que la cantidad de glucógeno que se puede almacenar en el músculo es limitada, la cantidad de energía que se puede obtener en su degradación permite el ejercicio intenso durante un periodo de tiempo corto. El lactato difunde hasta la sangre, y de allí es retirado, bien por el hígado para sintetizar glucosa, o por el corazón para oxidarse y obtener energía.

Cuando se lleva a cabo un ejercicio prolongado de baja o mediana intensidad, se utiliza glucosa, además de los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos, dado que en estas condiciones tanto el aporte de oxígeno como de combustibles está asegurado.

Cuando los niveles de ácidos grasos y de cuerpos cetónicos están elevados en sangre, se utilizan como combustibles preferentes y se inhibe la degradación de glucosa. Existe una relación inversa entre las velocidades de oxidación de glucosa y de ácidos grasos en el músculo. Cuando los ácidos grasos se movilizan desde el tejido adiposo aumenta su velocidad de oxidación en el músculo, diminuyendo la velocidad de oxidación de glucosa. El efecto puede deberse a la inhibición de la fosfofructokinasa-1 por el citrato, que se incrementa con la oxidación de ácidos grasos y cuerpos cetónicos; ello conduce al aumento de fructosa-6-fosfato, que eleva los niveles de glucosa-6-fosfato, que a su vez inhibe la hexokinasa, con lo que se frena el consumo de glucosa. También la piruvato deshidrogenasa se inhibe, al incrementarse la relación acetil-CoA/CoA. Este efecto también se produce en la corteza renal y en el intestino delgado. El efecto es semejante en el cerebro en relación con la oxidación de cuerpos cetónicos **(Figura 4)**.

Sin embargo, cuando la insulina está alta, la glucosa se degrada rápidamente y se produce una gran cantidad de acetil-CoA que se convierte en malonil-CoA. Este malonil-CoA inhibe la carnitina palmitoil transferasa I, con lo que se inhibe la entrada de acil-CoA a la mitocondria y, por tanto, no se puede llevar a cabo su oxidación.

En el ayuno, el músculo moviliza sus propias proteínas para obtener energía en la degradación de los aminoácidos. En esta situación se liberan a la sangre alanina y glutamina, que pueden servir de combustible a otros tejidos periféricos y, en último término, como sustratos gluconeogénicos al híga-

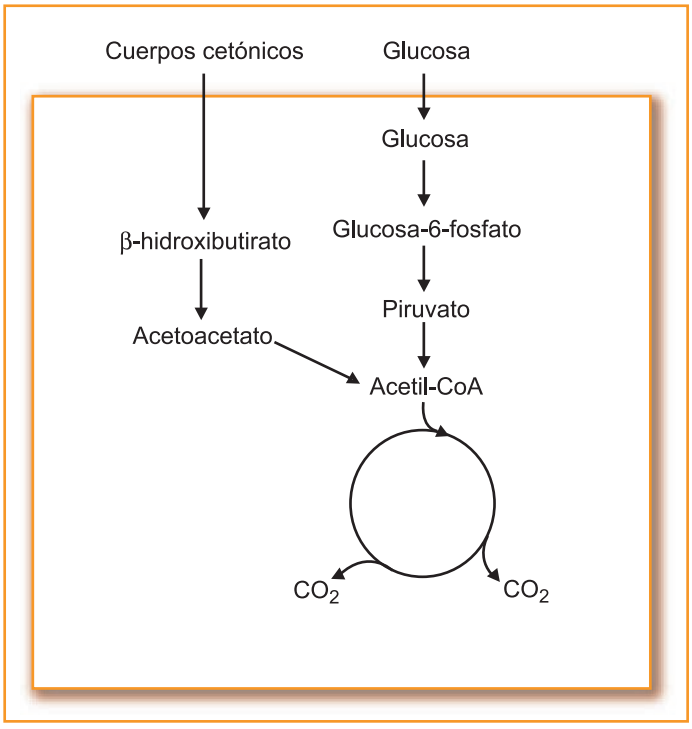


Figura 5. *Metabolismo del cerebro.*

do. Sin embargo, dado que esta situación es muy peligrosa, se reduce al mínimo.

Recientemente se ha descrito que en las células del músculo esquelético existe un depósito de triacilgliceroles que funciona como reserva importante de energía que puede movilizarse por las catecolaminas y por el ejercicio. Esta reserva, de la misma manera que en el adipocito, es degradada por la lipasa sensible a hormonas. En el músculo la enzima es activada por la adrenalina a través de la proteína kinasa A y también por la contracción vía proteína kinasa C y ERK (***E**xtracelular signal-**R**egulated **K**inase*). Se ha demostrado que durante la contracción la AMPK (proteína kinasa activada por AMP) fosforila la lipasa sensible a hormonas, pero esta fosforilación no es directamente responsable de la activación inducida por la contracción.

2.4.2. Músculo cardiaco

El corazón tiene unas demandas energéticas ilimitadas, pues mantiene una actividad continua de contracción y relajación. Tiene un gran contenido de mitocondrias y obtiene su energía de la fosforilación oxidativa por la oxidación completa de los combustibles.

Por tanto, su metabolismo es totalmente aerobio y utiliza glucosa, ácidos grasos, cuerpos cetónicos y lactato. No dispone de reservas energéticas, tan sólo de una pequeña cantidad de creatina-fosfato, por lo que para mantener su actividad necesita tanto el aporte continuo de nutrientes como de oxígeno.

El corazón, por la acción de la lipoproteína lipasa del endotelio, puede captar los ácidos grasos transportados en las liproproteínas ricas en triacilgliceroles, quilomicrones y VLDL.

2.5. Cerebro

La glucosa es el combustible metabólico por excelencia que utilizan las neuronas, las cuales, sólo de forma excepcional, en el ayuno prolongado pueden utilizar cuerpos cetónicos como combustible alternativo. El 60% de la glucosa utilizada diariamente por el organismo se consume por el cerebro, que no dispone de reservas importantes de glucosa, por lo que se le debe suministrar de forma continua para que pueda obtener la energía que necesita para cumplir sus funciones específicas.

Así, debe mantener los potenciales de membrana que son esenciales para transmitir señales eléctricas y también sintetizar neurotransmisores y sus receptores.

Para que el cerebro pueda disponer de glucosa continuamente, se necesita que los niveles de glucemia se mantengan dentro de unos márgenes estrictos. La entrada de glucosa al cerebro se realiza a través del GLUT3. Este transportador tiene una K_m que le permite funcionar a saturación en condiciones de glucemia normales, no así cuando hay hipoglucemia (concentración de glucosa inferior a 2 mM, 36 mg/dl), lo que compromete el funcionamiento normal de las células nerviosas.

La glucosa en el interior de la célula es inmediatamente fosforilada por la hexokinasa, que tiene una K_m baja, es decir, tiene una gran afinidad por la glucosa. La glucosa-6-fosfato se degrada por la vía glucolítica aerobia hasta CO_2 y H_2O, para lo que requiere un aporte continuo de oxígeno **(Figura 5)**.

2.6. Riñón

El riñón debe obtener ATP para el trabajo osmótico de eliminación de sustancias de desecho en contra de un gradiente de concentración. En el riñón se pueden distinguir dos zonas bien definidas: corteza y médula.

La **corteza** contiene los glomérulos y los túbulos proximales y distales, donde se reabsorben los iones y moléculas pequeñas. Este proceso requiere una gran cantidad de energía que se obtiene por degradación oxidativa aerobia de glucosa, ácidos grasos, cuerpos cetónicos y glutamina. En situaciones de acidosis y en el ayuno utiliza glutamina para obtener NH_3 y eliminar los H^+ como sales amónicas y así colaborar en la regulación del pH. El esqueleto carbonado es utilizado como sustrato gluconeogénico para obtener glucosa en el ayuno y en situaciones de acidosis (*ver Capítulo 1.14, Figura 12*). También cuando el hígado no funciona adecuadamente el riñón sintetiza glucosa a través de la gluconeogénesis para mantener la glucemia.

La **médula** es muy diferente: necesita ATP para la reabsorción de iones en las asas de Henle y lo obtiene por la degradación anaerobia de glucosa, ya que el flujo de sangre es mucho más pobre aquí que en la corteza y, por lo tanto, también lo es el aporte de oxígeno. La médula almacena glucógeno en mayor proporción que la corteza.

2.7. Eritrocitos

Los eritrocitos maduros son un tipo especial de células, no contienen orgánulos celulares y su metabolismo se restringe al metabolismo de la glucosa. Para mantener su forma bicóncava y su ambiente iónico necesitan ATP. Al carecer de mitocondrias, degradan la glucosa anaeróbicamente hasta piruvato para obtener ATP y NADH. El NADH obtenido se regenera, en parte, por la lactato deshidrogenasa, originando lactato.

También el NADH lo utilizan para mantener la hemoglobina con Fe^{2+} y evitar su oxidación a Fe^{3+}. La oxidación de la hemoglobina origina metahemoglobina y el transporte de oxígeno se ve comprometido. La reducción de la metahemoglobina (Fe^{3+}) a hemoglobina (Fe^{2+}) está catalizada por la metahemoglobina reductasa, que utiliza NADH como reductor. El ATP obtenido les permite mantener la estructura de la membrana y el gradiente iónico.

La glucólisis en el eritrocito se desvía para la obtención del 2,3-bisfosfoglicerato. El 2,3-bisfosfoglicerato es un modulador alostérico de la hemoglobina; su unión a la desoxihemoglobina disminuye su afinidad por el oxígeno y, con ello, contribuye muy positivamente a la oxigenación de los tejidos. La desviación de la ruta glucolítica implica la actuación de la fosfoglucomutasa y de una fosfatasa 2,3-bisfosfoglicerato fosfatasa **(Figura 6)**.

Otra de las rutas de utilización de glucosa en el eritrocito es la vía de las pentosas fosfato, con la que se obtiene poder reductor en forma de NADPH para evitar la oxidación de los grupos SH de las proteínas y para mantener el glutatión reducido como mecanismo de defensa antioxidante.

2.8. Leucocitos

Los diferentes tipos de leucocitos, polimorfonucleares, monocitos y linfocitos, utilizan como fuente de carbono la glucosa. Ésta es degradada por la vía glucolítica en anaerobiosis a una gran velocidad, posiblemente por su capacidad de crecer y dividirse rápidamente.

También la glutamina es utilizada por los linfocitos como combustible para la obtención de energía y como precursor para la síntesis *de novo* de bases nitrogenadas. Estas células tienen una vida media muy corta y se regeneran a una gran velocidad.

2.9. Ojo

La función del ojo es recoger, transmitir y enfocar la luz, respondiendo mediante cambios eléctricos a su intensidad. Para que la luz pueda transmitirse a través de los tejidos del ojo con eficacia, se requiere que no existan estructuras óptimamente densas, como capilares y mitocondrias, que dispersarían y absorberían la luz. Por ello, los tejidos del ojo están supeditados casi completamente a la obtención de energía a partir de glucosa en condiciones de anaerobiosis.

Los distintos tejidos del ojo requieren glucosa para obtener energía y para obtener poder reductor en forma de NADPH.

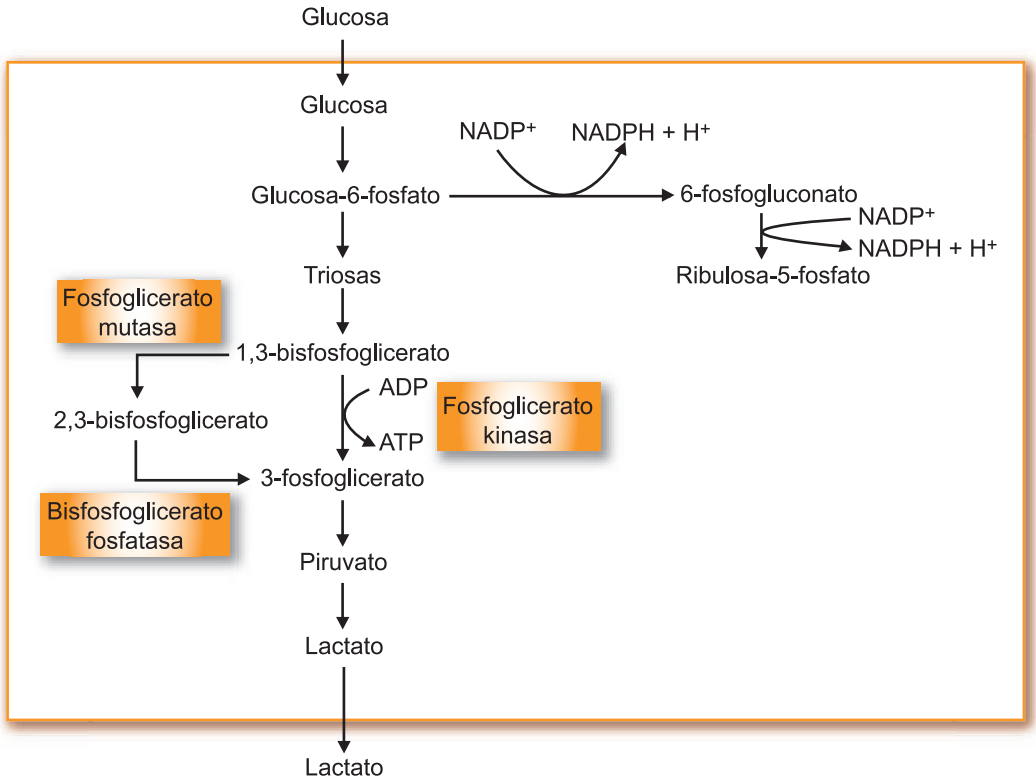


Figura 6. *Metabolismo de los eritrocitos.*

La córnea está formada en su mayoría por tejido conjuntivo que forma el estroma y que es metabólicamente inactivo.

Alrededor del estroma se encuentran los tejidos metabólicamente activos: el epitelio, en el exterior, que representa el 10% del peso total de la córnea, y el endotelio, en la cara interna, que representa el 1%. Estudios con córneas, incubadas en ambiente oxigenado, han demostrado que la mayoría de la glucosa se metaboliza por vía anaerobia hasta lactato. A pesar de esta gran actividad anaeróbica, se ha demostrado que la pequeña cantidad de glucosa que se degrada por vía aerobia, dado su alto rendimiento energético, proporciona hasta las tres cuartas partes de la energía que requiere y se realiza con la colaboración de un reducido número de mitocondrias. El oxígeno que requiere el epitelio lo toma directamente del aire, y el endotelio toma tanto el oxígeno como la glucosa del humor acuoso que también se encarga de recoger el lactato producido en la glucólisis anaerobia.

Otro aspecto importante del metabolismo de la córnea es la alta actividad de la vía de las pentosas fosfato, en su etapa oxidativa, por la que obtiene NADPH. Este NADPH le sirve para reducir el glutatión que, en su forma reducida, participa como antioxidante en diferentes reacciones. Así, mantiene reducidos los grupos SH de las enzimas, elimina el H_2O_2 y repara los lípidos de membrana que hayan sido oxidados por las especies de oxígeno reactivas tales como el superóxido e hidroxilo.

El cristalino necesita ATP para transportar iones y agua para mantener el balance osmótico, carece prácticamente de mitocondrias y degrada la glucosa en anaerobiosis, con lo que se acumula lactato. Además de la vía de las pentosas fosfato, utiliza la vía del sorbitol, la glucosa se reduce a sorbitol por la aldosa reductasa con la colaboración de NADPH y se reduce a fructosa mediante la sorbitol deshidrogenasa y NAD^+ (*ver Capítulo 1.9*). Esta vía puede encontrarse con una alta actividad cuando los niveles de glucosa son muy elevados de forma crónica, como sucede en la diabetes mellitus mal controla-

da. En esta situación, tanto las concentraciones de fructosa como las de sorbitol pueden elevarse, lo que provoca la entrada de agua para mantener la presión osmótica, dando lugar a cataratas.

También la retina obtiene su energía a partir de glucosa en su degradación por vía anaerobia hasta lactato. En la retina existen conos y bastones, que son los receptores visuales que poseen mitocondrias en su segmento interno. Sin embargo, estas mitocondrias se encuentran alejadas del segmento externo en el que se encuentra el pigmento fotosensible, por lo que la obtención de energía se debe llevar a cabo por la vía anaerobia.

3. Regulación de la glucemia

La glucosa es el combustible de todas las células, y para algunas el único, por lo que su concentración en sangre debe mantenerse constante para asegurar su adecuado suministro a todos los tejidos y órganos. El mantenimiento de la concentración de glucosa, dentro de unos márgenes, es una función fisiológica crítica que requiere múltiples rutas metabólicas y que implica varios tipos de células, entre las que se incluyen los hepatocitos, que poseen un papel prominente.

Las reservas de hidratos de carbono son relativamente pequeñas y la mayoría de las mismas aparece como glucógeno en el hígado y en el músculo. Cuando la glucosa se eleva después de la ingesta, se almacena en forma de glucógeno en estos dos tejidos. Mientras que el glucógeno hepático colabora en la regulación de la glucemia, el glucógeno muscular, sin embargo, no lo hace. El músculo no tiene glucosa-6-fosfatasa, por lo que no puede liberar glucosa al torrente sanguíneo, aunque sí libera lactato, que puede ser usado como sustrato gluconeogénico.

3.1. Regulación hormonal

Los hepatocitos están sometidos a un control hormonal que les permite adaptarse al estado bien nutrido o a las diferentes situaciones de ayuno, almacenando o produciendo glucosa según las necesidades del organismo. En el control de la glucemia participan fundamentalmente las hormonas hiperglucemiantes (adrenalina, glucagón y glucocorticoides) y una única hormona hipoglucemiante (insulina) (*ver Capítulo 1.5*). Insulina y glucagón tienen efectos contrapuestos, de manera que es la relación glucagón/insulina la que se modifica en respuesta a situaciones de hiperglucemia y de hipoglucemia **(Figura 7)**.

El hígado libera glucosa directamente a la sangre en respuesta a la caída de los niveles de insulina y la elevación en los de glucagón (*ver Capítulo 1.9*). El glucagón, liberado por las células α del páncreas, en respuesta a la hipoglucemia, se une a sus receptores específicos en la membrana plasmática de las células de sus órganos diana, hígado y tejido adiposo. El complejo hormona-receptor, a través de su interacción con las proteínas G, activa la adenilato ciclasa, con lo que se elevan los niveles de AMPc como segundo mensajero y se activa la proteína kinasa A. La proteína kinasa A desencadena la cascada de reacciones de fosforilación que conduce a la activación de la degradación del glucógeno. En primer lugar, fosforila la fosforilasa kinasa que, al ser fosforilada, se activa. A su vez, la fosforilasa kinasa a activa fosforila la fosforilasa, dando lugar a la forma activa, que es la fosforilasa a, con lo que se desencadena la degradación del glucógeno.

La adrenalina, que se libera en situaciones de estrés y de hipoglucemia intensa, participa también en la regulación del metabolismo del glucógeno en el hígado. Los efectos de la adrenalina son semejantes a los del glucagón; la única diferencia es que se une preferentemente a receptores α_1-adrenérgicos y su acción está mediada por el Ca^{++}. También el Ca^{++} puede activar la fosforilasa kinasa, que se activa parcialmente por su unión. La adrenalina puede actuar también en el hígado a través de su unión a receptores β-adrenérgicos, originando AMPc como segundo mensajero, activando la degradación del glucógeno de la misma forma que el glucagón.

Este es el mecanismo más rápido e inmediato para suministrar glucosa al cerebro y otros tejidos en el ayuno nocturno. Sin embargo, estas reservas sólo pueden suministrar glucosa durante un corto periodo de tiempo, de manera que si el periodo de ayuno se prolonga deberá acudirse a otras fuentes de glucosa.

Otro de los procesos que se activa en la hipoglucemia por acción de la adrenalina y el glucagón es la gluconeogénesis. La proteína kinasa A fosforila

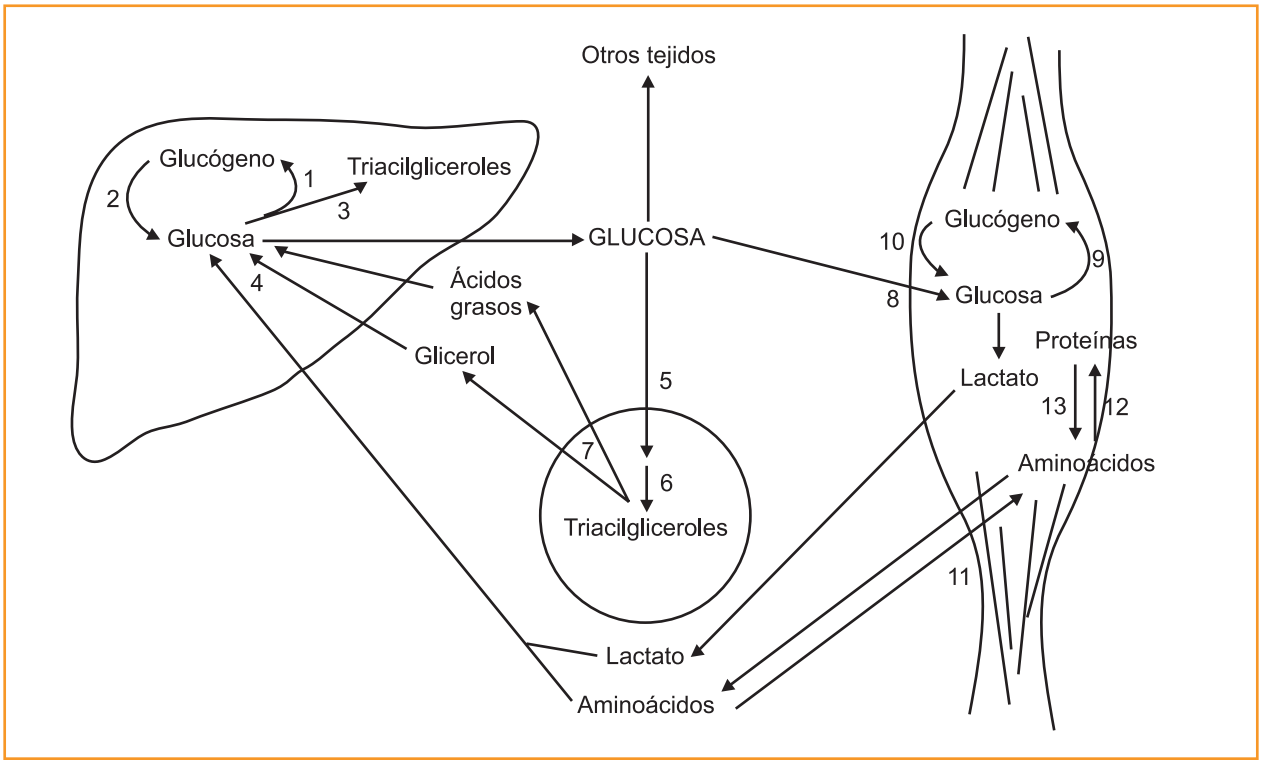


Figura 7. *Regulación de la glucemia. Insulina (+): 1, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 12; insulina (-): 4, 7, 13; glucagón (+): 2, 4, 7; adrenalina (+): 2, 4, 7, 10; glucocorticoides (+): 4, 13.*

la enzima bifuncional, fosfofructokinasa-2/fructosa-2,6-bisfosfatasa-2, que está implicada en la biosíntesis y degradación de la fructosa-2,6-bisfosfato. La fosforilación de esta enzima provoca la disminución de la fructosa-2,6-bisfosfato, con lo que se inhibe la glucólisis y se activa la gluconeogénesis. También la proteína kinasa A fosforila la piruvato kinasa, otra de las enzimas clave de la glucólisis, y la inactiva, con lo que se activa la gluconeogénesis. Además, tanto el glucagón como la adrenalina inducen las enzimas gluconeogénicas (*ver Capítulo 1.9*).

El descenso de insulina, junto a una elevación de los glucocorticoides, conduce a la movilización de aminoácidos del músculo. Los glucocorticoides activan la proteólisis muscular y los aminoácidos liberados son transportados hasta el hígado por vía sanguínea, para ser utilizados como sustratos gluconeogénicos. Además, los glucocorticoides inducen algunas enzimas gluconeogénicas, especialmente la fosfoenolpiruvato carboxikinasa.

Cuando los niveles de glucosa se elevan, se libera insulina por las células β del páncreas. La insulina, al unirse a sus receptores en las células del músculo esquelético y del tejido adiposo, hace posible que el GLUT4 se transporte desde las vesículas de almacenamiento intracelulares hasta la membrana plasmática.

El hígado retira la glucosa de la circulación y la almacena en forma de glucógeno o la metaboliza a través de la glucólisis (*ver Capítulo 1.9*). El GLUT2 es el transportador que media la difusión de la glucosa a través de la membrana plasmática del hepatocito. Este transportador es constitutivo de la membrana del hepatocito y mantiene la glucosa intracelular en equilibrio con la glucosa extracelular y es independiente de insulina.

No obstante, la insulina afecta a la captación de glucosa por el hígado en situaciones de hiperglucemia y en el periodo posprandial porque, al inducir a la glucokinasa, facilita su fosforilación a glucosa-6-fosfato, con lo que queda retenida dentro de la célula. La colaboración entre GLUT2 y glucokinasa retira glucosa de forma importante cuando está alta en el plasma.

La insulina disminuye la glucemia, suprimiendo la gluconeogénesis y la glucogenólisis hepáticas y

facilitando la síntesis de glucógeno hepático y muscular y la glucólisis. La regulación se produce tanto a nivel de actividades enzimáticas como a nivel de transcripción de las enzimas reguladoras (*ver Capítulo 1.9*).

La inhibición de la gluconeogénesis hepática, previamente estimulada por glucagón, se produce porque la insulina actúa a dos niveles. Por una parte, disminuye los niveles de AMPc, incrementando la fosfodiesterasa que lo hidroliza, y, por otra, estimula la actividad de las proteínas fosfatasas. La proteína fosfatasa 1 activa la desfosforilación de la enzima bifuncional, fosfofructokinasa-2/fructosa-2,6-bisfosfatasa-2; la forma desfosforilada tiene actividad fosfofructokinasa-2 y ello provoca la formación de fructosa-2,6-bisfosfato. Este metabolito es un potente activador de la fosfofructokinasa-1 y un inhibidor de la fructosa-1,6-bisfosfatasa-1, por lo que se produce tanto la activación de la glucólisis como la inhibición de la gluconeogénesis.

También la insulina inhibe la lipólisis en tejido adiposo, al provocar la disminución del AMPc por activación de la fosfodiesterasa. Esta inhibición, que afecta a la lipasa sensible a hormonas, disminuye la liberación de glicerol y de ácidos grasos y, con ello, disminuye el aporte de sustrato, glicerol, y de fuente de energía, ácidos grasos, para la gluconeogénesis hepática.

Otro de los efectos de la insulina se produce a nivel de expresión de las enzimas implicadas en las rutas glucolítica y gluconeogénica. En general, la insulina induce las enzimas glucolíticas y reprime las gluconeógenicas por un mecanismo que implica la fosforilación de factores que se ligan a zonas específicas del DNA para estimular o inhibir la transcripción de los correspondientes genes (*ver Capítulo 1.9*).

3.2. Papel del PPAR-γ en el control de la glucemia

Actualmente, se conoce que la activación del PPAR-γ (*ver Capítulo 1.7*) tiene efectos positivos sobre la homeostasis de la glucosa. La activación del PPAR-γ se produce por la unión de ligandos naturales o sintéticos. Entre los naturales se encuentran los ácidos grasos y sus derivados y entre los sintéticos se encuentran las tiazolidindionas, que son utilizadas como antidiabéticos al incrementar la sensibilidad a insulina.

En el tejido adiposo, el gen del PPAR-γ da lugar a tres mRNA, PPAR-γ1, PPAR-γ2 y PPAR-γ3, que difieren en su extremo 5'. En el humano se expresan como PPAR-γ1 y 3 en una mayor proporción en el intestino grueso y en el tejido adiposo, y en una proporción menor pero medible en el riñón, en el hígado y en el intestino delgado. PPAR-γ2 se expresa en mayor proporción en el tejido adiposo y en una proporción mínima en el hígado, y no se expresa en otros tejidos. Aunque los PPAR-γ se expresan en el hígado, en el músculo y en otros tejidos, su importancia fisiológica sólo está demostrada en el tejido adiposo, en donde su nivel de expresión es mayor. La inducción de PPAR-γ se produce por C/EBPβ (*CCAAT-**E**nhancer-**B**inding-**P**rotein*) y C/EBPδ, cuya transcripción se activa por la insulina. Ambos factores de transcripción inducen de forma directa la expresión solos o en colaboración con el C/EBPα y el ADD-1/SREBP-1 (***A**dipocyte **D**ifferentiation **D**ependent Factor*)/(***S**terol **R**esponse **E**lement **B**inding **P**rotein*).

El alto nivel del PPAR-γ en el tejido adiposo demuestra que su función es importante en la adipogénesis y en la expresión de genes en el adipocito. Además, el efecto positivo que la activación del PPAR-γ provoca sobre el control glucémico se debe a que estimula la captación y utilización de los ácidos grasos libres, procedentes de las lipoproteínas ricas en triacilgliceroles, por el adipocito. El mecanismo mediante el cual ejerce su acción es promoviendo la expresión de genes implicados en la captación y almacenamiento de ácidos grasos en los adipocitos tales como los que codifican la proteína de unión a ácidos grasos ap2, la lipoproteína lipasa y la acil-CoA sintasa. Por el contrario, reprime los genes implicados en la lipólisis tales como el receptor β3-adrenérgico y las citokinas leptina y TNF-α. Esto conduce a una disminución relativa de ácidos grasos para el músculo, por lo que se produce un incremento del metabolismo de la glucosa en el mismo.

Al mismo tiempo se incrementa la expresión de genes involucrados en la captación de glucosa (GLUT4) y en la cascada de señalización de insulina en el tejido adiposo y en el músculo, junto a una modulación de las moléculas de señalización derivadas del tejido adiposo. Entre las moléculas de señalización derivadas de los adipocitos y cuya expresión y niveles circulantes se pueden ver modificados por los PPAR-γ se encuentran el TNF-α y la leptina; ambos interaccionan con la ruta de seña-

lización de la insulina y afectan al consumo de glucosa en el músculo.

El TNF-α reduce la captación de glucosa estimulada por insulina y se encuentra incrementado en individuos obesos y con resistencia a insulina. La expresión del TNF-α se inhibe por la activación del PPAR-γ, en los adipocitos por lo que éste podría ser un buen mecanismo para mejorar el control glucémico. Asimismo, el PPAR-γ parece proteger a las células β del páncreas de la acumulación de triacilgliceroles que se asocian a menudo con la diabetes tipo 2 y así mejora la función de estas células.

Todos estos hechos son muy interesantes para explicar la razón por la que los PPAR-γ pueden ser un punto importante de actuación para mejorar el consumo de glucosa por el músculo, al dirigir los ácidos grasos al tejido adiposo y evitar así su interferencia en el consumo de glucosa. Sin embargo, esto debe ser invertido en el ayuno, en el que lo que se necesita es que no se utilice glucosa por el músculo y se utilicen, como combustible alternativo, los ácidos grasos.

4. Relaciones metabólicas tisulares en distintas situaciones

Para tratar de conocer las relaciones entre los diferentes tejidos hay que considerarlos en distintas situaciones fisiológicas: en el estado bien nutrido, en el ayuno en sus distintas etapas y en la realimentación.

El ayuno es una situación metabólica de interés, en tanto en cuanto se utiliza para el tratamiento de algunos casos de obesidad y alguna de sus peculiaridades metabólicas son semejantes a las que se producen en situaciones de malnutrición, ampliamente extendida en muchas zonas del mundo.

La mayoría de los datos obtenidos sobre el ayuno prolongado proceden de pacientes obesos voluntarios sometidos a un ayuno terapéutico. Hay que indicar que las reservas energéticas en un hombre de unos 70 kg son de: triacilgliceroles ($\simeq$ 10-15 kg), proteínas ($\simeq$ 2 kg) y glucógeno ($\leq$ 450 g), lo que en principio le permitiría permanecer en ayunas hasta 3 meses. Sin embargo, la mayoría de la reserva energética se encuentra como triacilgliceroles, y no todos los tejidos pueden utilizar los ácidos grasos como combustibles.

Se pueden distinguir dos tipos de órganos en los mamíferos, los que pueden utilizar ácidos grasos y los que, como el cerebro y los eritrocitos, no pueden utilizar ácidos grasos y tienen que utilizar glucosa como sustrato energético. Por tanto, el organismo debe suministrar siempre de forma simultánea ácidos grasos y glucosa. Los triacilgliceroles del tejido adiposo proporcionan ácidos grasos y glicerol, que se transforma en glucosa en hígado. El glucógeno hepático se degrada hasta glucosa. Las proteínas se hidrolizan para dar lugar a aminoácidos cuyo esqueleto carbonado o bien se convierte en glucosa en un 60% o bien se oxida en un 40%, y su nitrógeno se convierte en urea.

En el ayuno la glucosa se convierte en el sustrato más valorado y prácticamente todas las adaptaciones metabólicas van encaminadas a proporcionar glucosa a las células que no pueden utilizar otros combustibles y a evitar su utilización por las que pueden usar otros combustibles alternativos.

Para estudiar las adaptaciones metabólicas que tienen lugar en el organismo humano se pueden distinguir varios periodos: posprandial, postabsortivo, ayuno temprano, ayuno prolongado y realimentación.

En el periodo posprandial, la glucosa es de origen exógeno: procede de la dieta. En el postabsortivo la glucosa sanguínea procede de la degradación del glucógeno hepático y cuando éste se va agotando se recurre a la gluconeogénesis a partir de lactato, glicerol y alanina.

En el ayuno temprano la gluconeogénesis hepática disminuye, dando paso a la biosíntesis de cuerpos cetónicos, que son utilizados por el cerebro y otros tejidos, y también se realiza la gluconeogénesis a partir de glutamina en el riñón.

Por último, en el ayuno prolongado, los cuerpos cetónicos se convierten en el sustrato preferente del cerebro y esta etapa termina con la realimentación o con la muerte, al agotarse las reservas lipídicas en el tejido adiposo y producirse una etapa de degradación proteica muy rápida.

4.1. Periodo posprandial

Los productos finales de la digestión de los nutrientes son absorbidos por el intestino. La glucosa

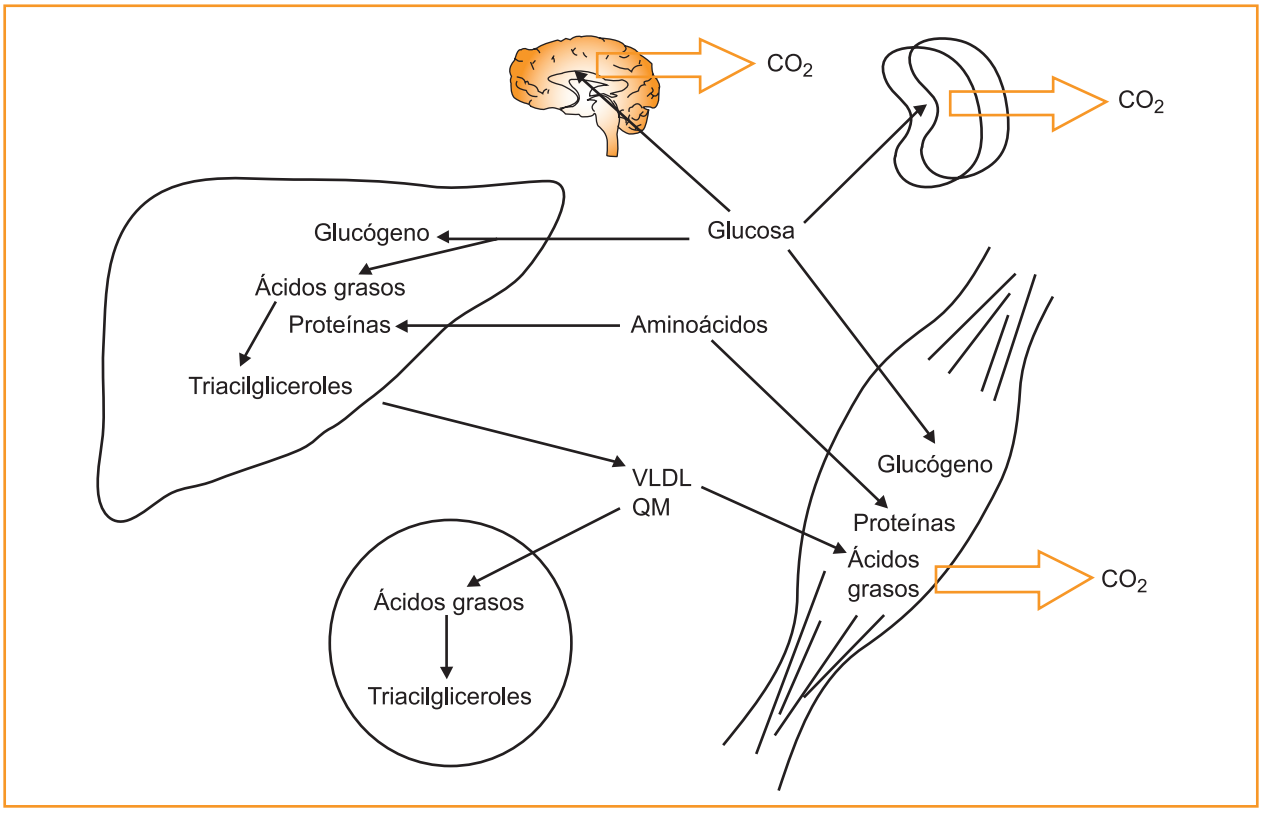


Figura 8. *Relaciones intertisulares en el estado posprandial.*

y los otros monosacáridos procedentes de la digestión de los hidratos de carbono irán por vena porta al hígado. Asimismo, los aminoácidos procedentes de las proteínas de la dieta, aunque son en parte metabolizados en el intestino, pasan también por vena porta al hígado. Por el contrario, los lípidos de la dieta seguirán una ruta diferente: se convierten en quilomicrones en el intestino y son transportados por vía linfática hasta llegar a la circulación sanguínea por el conducto torácico **(Figura 8)**.

4.1.1. Destino de la glucosa

En este periodo posprandial la glucosa llega al hígado y, como su concentración está elevada, entra a través de su transportador GLUT2 y se fosforila por la glucokinasa. La glucosa fosforilada puede seguir varias vías:

a) Almacenarse en forma de glucógeno.

b) Convertirse en acetil-CoA, que a su vez puede oxidarse para obtener energía o servir de sustrato para la biosíntesis de ácidos grasos.

c) Seguir la vía de las pentosas fosfato para suministrar poder reductor para reacciones de biosíntesis, en especial la de ácidos grasos.

Una gran proporción de la glucosa que llega al hígado pasa a la circulación sistémica para ser distribuida a los distintos tejidos, algunos de los cuales la utilizan como combustible exclusivo. En el músculo la glucosa se almacena en forma de glucógeno o se degrada. Algunos otros tejidos sólo degradan la glucosa hasta lactato y éste se libera a la sangre, de la que se retira por el hígado, para ser utilizado como fuente de carbono para gluconeogénesis o para la síntesis lipídica.

Hasta hace unos años se consideraba que los procesos de glucólisis y gluconeogénesis y los de biosíntesis y degradación de glucógeno estaban siempre o bien funcionando completamente o desconectados.

Actualmente se considera que estos procesos son operativos al mismo tiempo y que depende de la situación nutricional que la reacción se desplace en uno u otro sentido; funcionan como ciclos de sustrato (*ver Capítulo 1.9*).

4.1.2. Destino de los aminoácidos

Algunos de los aminoácidos, procedentes de las proteínas de la dieta, son metabolizados en el intestino, que los utiliza como combustibles: aspartato, glutamato, asparragina y glutamina son convertidos, en especial, en alanina. Los aminoácidos llegan al hígado por vena porta y allí son utilizados en parte para la biosíntesis de proteínas, tanto hepáticas como plasmáticas, y de otras biomoléculas. El resto de los aminoácidos salen a la circulación sistémica y llegan a los tejidos periféricos, donde son utilizados para la biosíntesis de proteínas u otras moléculas específicas.

Como no existe almacén de proteínas en el organismo humano cuando los aminoácidos se consumen en exceso, sobre todo los no esenciales, son degradados principalmente por el hígado. El esqueleto carbonado de estos aminoácidos es utilizado para la biosíntesis de glucosa o de lípidos o para la obtención de energía. Los aminoácidos de cadena ramificada se degradan en el tejido adiposo para la obtención de lípidos y en el músculo para la obtención de energía.

Las enzimas degradativas hepáticas tienen unas K_m altas para sus sustratos aminoácidos, y algunas se inducen por una dieta rica en proteínas, cuando la llegada de aminoácidos al hígado por vena porta es muy elevada. Por el contrario, las enzimas encargadas de llevar a cabo la activación de los aminoácidos para la síntesis proteica tienen K_m muy bajas. Las características cinéticas de ambos tipos de enzimas aseguran, en primer lugar, que los aminoácidos sean utilizados con fines biosintéticos y, en segundo lugar, que sólo cuando éstos están cubiertos sean degradados.

4.1.3. Destino de los lípidos

Los lípidos de la dieta absorbidos en el intestino se convierten en quilomicrones que salen del enterocito por vía linfática y llegan a la circulación sanguínea por el conducto torácico.

El hígado, durante este periodo, sintetiza lípidos a partir de glucosa y lactato y los convierte en VLDL que salen a la circulación sanguínea. Los quilomicrones y las VLDL son utilizados tanto por las células del tejido adiposo como por las musculares, gracias a la actuación de la lipoproteína lipasa. En el músculo los ácidos grasos se almacenan en parte, o se utilizan directamente como combustibles. Los adipocitos captan ácidos grasos de estas lipoproteínas y posteriormente los utilizan para esterificar al glicerol-fosfato, obtenido de la degradación de glucosa, y dar lugar a triacilgliceroles que se almacenan en el tejido adiposo.

El tejido adiposo cumple su función de reserva de energía, almacenando triacilgliceroles y movilizándolos como fuente de energía en el ayuno, permitiendo la homeostasis y la supervivencia.

4.2. Periodo postabsortivo (ayuno nocturno)

Se puede considerar periodo postabsortivo el correspondiente al ayuno nocturno: todo el contenido de la anterior comida ha sido absorbido y el intestino delgado está vacío.

La glucosa es principalmente consumida por el cerebro, pero algunos otros tejidos como el músculo esquelético todavía obtienen una cantidad importante de su energía de la degradación de glucosa, aunque este consumo disminuye progresivamente. Los ácidos grasos comienzan a ser movilizados del tejido adiposo para suministrar energía al músculo en una gran proporción y el contenido de ácidos grasos plasmáticos se incrementa **(Figura 9)**.

Las concentraciones de glucosa y de insulina disminuyen en el periodo postabsortivo hasta niveles que dan lugar a la inhibición de la glucógeno sintasa y la activación de la fosforilasa. De esta forma, el glucógeno hepático se degrada para suministrar glucosa a los tejidos periféricos. Desde el amanecer, la gluconeogénesis hepática adquiere una gran importancia en la liberación de glucosa, siendo la más importante a las 24 horas de ayuno.

La primera señal en el ayuno parece ser la bajada del nivel de insulina que, junto con la presencia de concentraciones normales o incluso elevadas de glucagón, modifica la relación insulina/glucagón y desencadena la glucogenólisis e incluso la gluconeogénesis. La disminución del nivel de insulina permite también la proteólisis en el músculo esquelético, que libera aminoácidos, principalmente glutamina y alanina. La alanina va directamente al hígado, donde es utilizada como sustrato gluconeogénico y su nitrógeno se excreta como urea.

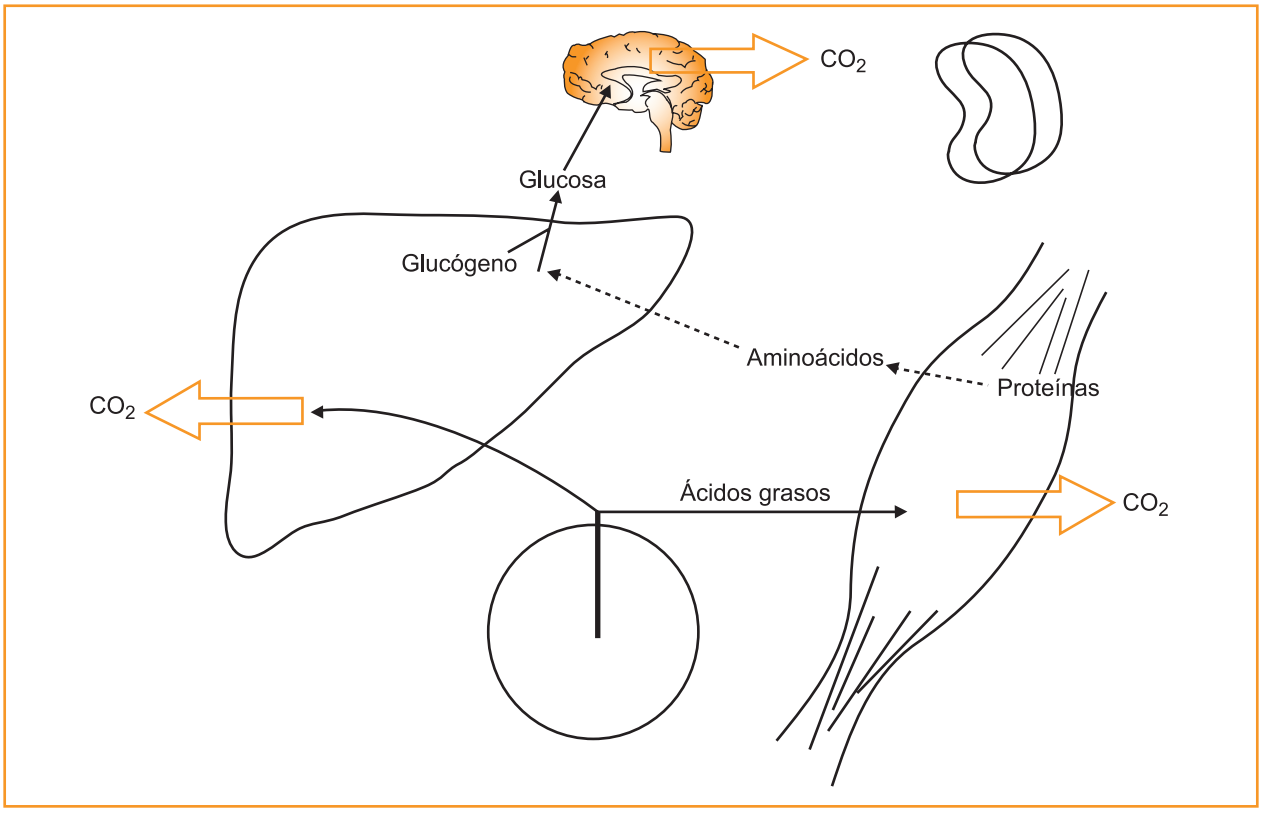


Figura 9. *Relaciones intertisulares en el estado postabsortivo.*

4.3. Ayuno temprano (1-3 días de ayuno)

Durante la primera parte del ayuno (los 2 primeros días) son muy importantes los incrementos en la concentración de glucagón, hormona de crecimiento y glucocorticoides. Las reservas hepáticas de glucógeno, sin embargo, suministran sólo glucosa para un corto espacio de tiempo.

Cuando el glucógeno hepático se agota, lo que sucede hacia las 24 horas de ayuno, la gluconeogénesis se convierte en el único mecanismo para producir glucosa en el hígado. La gluconeogénesis hepática, y en algún grado la renal, juegan un papel importante en el mantenimiento de la glucosa sanguínea durante el ayuno, llegando a ser crítica entre las 18 y las 24 horas. A los 2 o 3 días de ayuno el cerebro vive principalmente de la glucosa producida por el hígado a partir de los aminoácidos procedentes de la proteína muscular.

El incremento de glucocorticoides y el descenso de insulina son muy importantes para acelerar la degradación de las proteínas corporales. La excreción de nitrógeno urinario en el estado bien nutrido está en función del nitrógeno consumido, siempre que el individuo esté en equilibrio de nitrógeno. Sin embargo, cuando se inicia la restricción calórica, la excreción de nitrógeno cae en 1 o 2 días. Sin embargo, cuando el organismo comienza a depender de la gluconeogénesis a partir de los aminoácidos de la proteína muscular como fuente principal de glucosa para el cerebro, la excreción del nitrógeno urinario puede incrementarse de nuevo. Es al llegar a la nueva fase del ayuno, en la que el consumo de glucosa por el cerebro es desplazada por el consumo de cuerpos cetónicos, cuando de nuevo baja la excreción del nitrógeno urinario.

En el ayuno temprano, gran parte de la glutamina, liberada por el músculo, es oxidada por el enterocito para la obtención de energía y convertida en alanina, que será posteriormente utilizada en el hígado como sustrato gluconeogénico. También la glutamina se utiliza como combustible energético por los linfocitos, y el producto final nitrogenado que se vierte a la sangre es el aspartato en lugar de alanina.

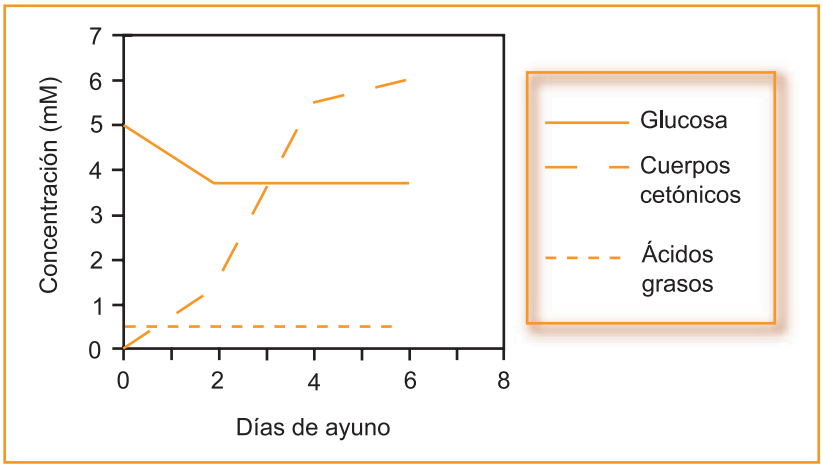


Figura 10. *Concentración de glucosa, cuerpos cetónicos y ácidos grasos en los primeros días de ayuno.*

Cuando el ayuno se prolonga, la degradación de la glutamina en la corteza renal se incrementa para suministrar NH_3 para la excreción de H^+ asociado a las altas concentraciones de cuerpos cetónicos, y su esqueleto carbonado es utilizado como sustrato gluconeogénico. En el ayuno tardío, una proporción importante de la glucosa corporal procede de los riñones.

El nivel de aminoácidos de cadena ramificada se eleva en el plasma a pesar de que aquéllos son preferentemente metabolizados en el músculo. Dado que los aminoácidos ramificados, valina, leucina e isoleucina no se acumulan dentro de la célula muscular, sus niveles en el plasma están relacionados con su concentración intracelular, que a veces puede doblarse como si se hubiesen ingerido proteínas. En todas las situaciones metabólicas la velocidad de excreción de nitrógeno en la orina es proporcional al nivel de aminoácidos ramificados en la circulación, lo que implica que su catabolismo en el músculo está regulado principalmente por sus niveles en las células y en la sangre.

Hacia el segundo o tercer día de ayuno las proteínas corporales no pueden continuar suministrando sustratos porque el cuerpo podría perder proteínas esenciales. Las proteínas musculares no proporcionan nada más que 4 kg, aproximadamente, de proteínas para la gluconeogénesis y en condiciones extremas puede obtenerse 1 kg más pocedente de otros tejidos. Ésta es una cantidad insuficiente para suministrar toda la glucosa que se requiere por el cerebro, y se debe disponer de otros sustratos gluconeogénicos adicionales. Uno de ellos es el glicerol derivado de la lipólisis de los triacilgliceroles en el tejido adiposo. Si se degradan del orden de 180 a 200 g de triacilgliceroles diariamente para suplir los requerimientos energéticos, al menos 18-20 g se podrían utilizar para la biosíntesis de glucosa en el hígado y en menor proporción en la corteza renal.

Otras fuentes no glucídicas de glucosa son el lactato y el piruvato procedentes del glucógeno muscular. El glucógeno muscular es utilizado en el ejercicio muscular violento, pero en el ayuno se ha observado que incluso cuando no se hace ejercicio disminuye el glucógeno muscular.

La regulación precisa de estos procesos se evidencia por la estabilidad de la glucemia que se mantiene entre 3,5 y 4,0 mM a los 2-3 días del ayuno total y permanece en esos niveles todo el periodo de ayuno hasta la muerte, cuando cae bruscamente, como se ha demostrado en animales de experimentación **(Figura 10)**.

El incremento en el nivel de glucagón que se produce en el ayuno conduce a la lipólisis del tejido adiposo, con lo que se liberan ácidos grasos libres al plasma. La utilización de ácidos grasos no está tan bien regulada por retroinhibición por ATP como el metabolismo de la glucosa, por lo que una concentración de ácidos grasos libres elevada incrementa la velocidad de su oxidación **(Figura 11)**.

En el músculo la oxidación de los ácidos grasos conduce a la inhibición de la utilización de glucosa, inhibiendo la glucólisis al inhibir la fosfofructokinasa-1 y también la piruvato deshidrogenasa, como ya se indicó anteriormente (*ver apartado 2.4.1*). El resultado neto es que este tejido deja de captar y utilizar glucosa, con lo cual se obtiene casi toda la energía que se necesita de la oxidación de ácidos grasos libres. En consecuencia, la cantidad limitada de glucosa que hay en el organismo es reservada para aquellos tejidos que son absolutamente dependientes de la misma, especialmente el cerebro. Los ácidos grasos libres no pueden ser transportados a través de la barrera hematoencefálica. El glicerol liberado por la lipólisis en el tejido adi-

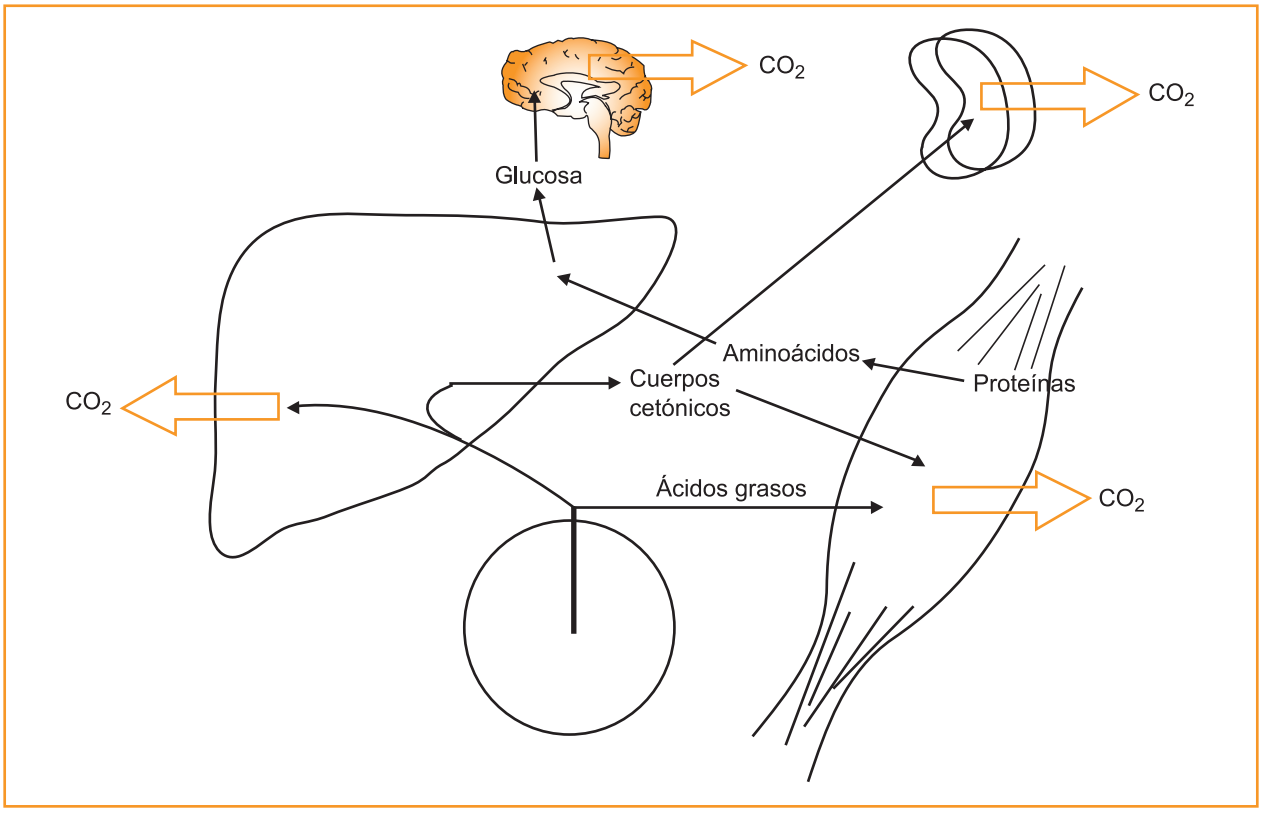


Figura 11. *Relaciones intertisulares en el ayuno temprano.*

poso es transportado hasta el hígado y convertido en glucosa.

En el estado de ayuno temprano, la mayoría de los ácidos grasos libres usados en el hígado se oxidan o se reexportan como VLDL. Sin embargo, cuando el ayuno perdura, la oxidación de ácidos grasos libres cambia progresivamente (como resultado de un incremento en la relación glucagón/insulina) desde su oxidación completa o su esterificación e incorporación a VLDL hasta la producción de sus formas finales parcialmente oxidadas, cuerpos cetónicos, β-hidroxibutirato y acetoacetato. En el hígado la degradación de los ácidos grasos procedentes del tejido adiposo origina una gran cantidad de poder reductor como NADH y $FADH_2$, lo que equivale a una gran cantidad de ATP, y acetil-CoA. El oxalacetato se deriva hacia la gluconeogénesis, en lugar de utilizarse en la condensación con acetil-CoA e iniciar el ciclo de Krebs. Este acetil-CoA se dirige en estas condiciones hacia la formación de cuerpos cetónicos que serán enviados a la circulación para ser utilizados por los tejidos periféricos, especialmente los músculos esquelético y cardiaco. La producción de cuerpos cetónicos por el hígado llega a ser tan grande que, después de varios días de ayuno, se convierten en el combustible de mayor concentración en sangre.

Los cuerpos cetónicos son también oxidados por el músculo, con lo que ahorra glucosa por el mismo mecanismo que tiene lugar en la oxidación de ácidos grasos. Además, los cuerpos cetónicos son utilizados con preferencia a los ácidos grasos libres, y su contribución a la obtención de energía pasa de ser un 10% en el ayuno nocturno al 50-80% a los 3-7 días de ayuno. Tienen la ventaja, frente a los ácidos grasos libres, de que deben ser transportados unidos a albúmina, que son solubles en agua y pueden atravesar la barrera hematoencefálica y pueden ser utilizados para la obtención de ATP en el cerebro.

Así pues, de esta forma, los cuerpos cetónicos suministran hasta el 10-20% de la energía que requiere el cerebro, proporción que, si el ayuno se prolonga durante varias semanas, puede incluso aumentar. Como consecuencia de la utilización incrementada de cuerpos cetónicos por el cerebro, sus

necesidades de glucosa disminuyen desde 100 g/día en condiciones de buena alimentación y al comienzo del ayuno hasta 40 g/día después de varias semanas de ayuno. Por alguna razón desconocida, el cerebro necesita siempre alguna cantidad de glucosa.

Es, por tanto, evidente que los ácidos grasos movilizados desde los depósitos del tejido adiposo por la acción de la lipasa sensible a hormonas son la principal fuente de energía en el ayuno. Para poder sobrevivir en el ayuno, es importante adaptar el metabolismo a esta situación. La adaptación implica modificaciones que afectan a la expresión génica y a la actividad de ciertas proteínas y enzimas del metabolismo energético en tejidos periféricos, especialmente la lipasa sensible a hormonas, la lipoproteína lipasa y las proteínas desacoplantes (UCP: ***Un**coupling **P**rotein*).

4.3.1. Lipasa sensible a hormonas

La lipasa sensible a hormonas del tejido adiposo es la enzima más importante en la ruta lipolítica, que es activada por fosforilación por la proteína kinasa A como consecuencia de la estimulación β-adrenérgica. Se sabe poco sobre la regulación de los niveles de mRNA de esta enzima, pero hay evidencia de que el ayuno prolongado conduce a un incremento en los niveles de mRNA de la lipasa sensible a hormonas en adipocitos y en tejido adiposo humanos.

Existen también evidencias de que el ayuno eleva los niveles de mRNA de la lipasa sensible a hormonas no sólo en el tejido adiposo, sino también en el músculo esquelético de cerdo, en el que los adipocitos que en el mismo residen podrían probablemente contribuir a este incremento. No obstante, es poco probable que ésta sea la única explicación. De hecho, se ha demostrado que la expresión de la lipasa sensible a hormonas se produce en cultivos primarios de células musculares. Recientemente se ha puesto de manifiesto que en las células musculares existe una reserva de triacilgliceroles que se degradan, al activarse la enzima por las catecolaminas y la contracción muscular. En el músculo la enzima es activada por la adrenalina a través de la proteína kinasa A y también por la contracción vía proteína kinasa C y ERK (***E**xtracelular signal-**R**egulated **K**inase*).

4.3.2. Lipoproteína lipasa

Otra de las enzimas que tiene un papel importante tanto en el metabolismo de las lipoproteínas como en el metabolismo energético es la lipoproteína lipasa. En efecto, la actividad de esta enzima controla el flujo de ácidos grasos libres hacia diferentes tejidos. Esta enzima muestra una regulación tejido-específica que puede explicar cómo los lípidos pueden repartirse entre el almacenamiento y la obtención de energía.

La lipoproteína lipasa en el tejido adiposo es alta durante la comida y en el periodo posprandial, pero está disminuida durante el ayuno, probablemente para dirigir el flujo de ácidos grasos libres hacia los tejidos que requieren energía. Los ácidos grasos libres y una larga lista de hormonas que afectan al flujo de ácidos grasos libres regulan la lipoproteína lipasa de una forma tejido-específica.

Efectivamente, se ha demostrado que la lipoproteína lipasa del tejido adiposo de ratas disminuye en el ayuno, mientras que la del músculo esquelético está incrementada. Además, en el tejido adiposo, se ha demostrado que la actividad de la lipoproteína lipasa está disminuida después de un ayuno de 3 días con un descenso en su expresión importante tanto a nivel de mRNA como de proteína.

La regulación de la lipoproteína lipasa en el tejido adiposo durante el ayuno es fundamental para el mantenimiento de la homeostasis de los triacilgliceroles. El descenso en la lipoproteína lipasa se ha demostrado que se puede deber tanto a mecanismos pre como postraduccionales. Como ya se ha indicado en el apartado 3.2, se ha demostrado que PPAR-γ y C/EBPα controlan la expresión de la lipoproteína lipasa y que existe un elemento de respuesta a PPAR-γ en su gen en el adipocito. El descenso apreciado del transcrito de la lipoproteína lipasa en el ayuno puede deberse a la disminución del PPAR-γ y del C/EBPα.

Además del descenso del transcrito de la lipoproteína lipasa, hay descensos significativos en los niveles de expresión de otros genes implicados en el metabolismo energético de los adipocitos tales como los de la ácido graso-sintasa, el GLUT4, la leptina y la ap2. Estos cambios parecen involucrar adaptaciones que están dirigidas a ajustar el reparto de energía para conservarla y poder enfrentarse así a la privación de alimento como mecanismo de supervivencia.

4.3.3. Proteínas desacoplantes

Las proteínas desacoplantes (UCP) son transportadores de protones localizados en la membrana interna de la mitocondria que disipan el gradiente de protones en forma de calor y parecen jugar un papel importante en las adaptaciones metabólicas, lo que ha sido demostrado en roedores.

En los últimos años se han identificado la UCP-2, proteína expresada en múltiples tejidos, y UCP-3, proteína expresada sobre todo en músculo y tejido adiposo marrón (*ver Capítulo 1.18*). Se ha propuesto que estas proteínas puedan participar en el control del gasto energético en diversos tipos celulares y en tejidos. En este sentido, se ha descrito que tanto UCP-2 como UCP-3 aumentan la tasa de respiración desacoplada cuando se sobreexpresan en cultivos celulares, y que la sobreexpresión de UCP-3 en el músculo esquelético de ratones transgénicos protege contra el desarrollo de la obesidad. Asimismo, la exposición de animales al frío, situación que se caracteriza por un incremento en el gasto energético, conduce al aumento en la expresión de UCP-3 tanto en el músculo como en el tejido adiposo marrón.

Puesto que la función original de las UCP es solamente la producción de calor, el incremento en la expresión de las UCP-2 y/o UCP-3 en el ayuno representa una interesante paradoja, ya que en el ayuno se requiere la conservación de energía más que un incremento en la producción de calor. Esta paradoja ha llevado a pensar que las UCP, y en especial la UCP-3, tienen otros papeles aparte del de termogénesis.

En efecto, se ha demostrado que la expresión de la UCP-3 está incrementada en el músculo esquelético en situaciones en las que los ácidos grasos libres están elevados en el plasma. Estos hechos se han puesto de manifiesto en cerdos sometidos a ayuno prolongado y también en el músculo esquelético humano, en el que se ha tratado de emular la situación del ayuno, administrando una infusión de ácidos grasos libres. También usando cultivos primarios de células musculares humanas el tratamiento crónico con una mezcla de ácidos grasos incrementa tres veces el nivel de mRNA de la UCP3, pero no el de la UCP2.

Varias líneas de evidencia sugieren que los ácidos grasos libres ejercen este efecto a través de los PPAR (*ver Capítulo 1.7*), ya que son ligandos para estos factores de transcripción nucleares. En primer lugar, se ha identificado recientemente un elemento de respuesta a PPAR en el promotor de la UCP3. En segundo lugar, se ha demostrado un incremento en la expresión del gen de la UCP3 con fibratos que activan al PPAR-α y con tiazolidindionas que activan a PPAR-γ. También se ha demostrado que la infusión de lípidos incrementa el nivel de mRNA del PPAR-γ en el tejido adiposo subcutáneo en humanos y en el músculo esquelético de rata. Los PPAR son un mecanismo de control fino del metabolismo de ácidos grasos, ya que al interaccionar como heterodímero con la secuencia PPRE de muchos genes implicados en el metabolismo lipídico activan su transcripción.

Sin embargo, no sólo los PPAR están implicados en la regulación de genes del metabolismo lipídico, sino que los lípidos regulan la actividad de los PPAR. Se ha indicado que miocitos humanos, tratados con ácidos grasos libres, incrementan 10 veces el nivel de mRNA de PPAR-γ, lo que sugiere que éste podría estar implicado en la sobreexpresión del gen de la UCP3. No está claro, sin embargo, cuál de los PPAR media esta regulación y es posible que esté controlada por diferentes PPAR con distintas especificidades tisulares y de especie.

La UCP3 puede tener un papel importante en el metabolismo y/o transporte de los ácidos grasos, bien facilitando su oxidación o bien promoviendo la salida de los ácidos grasos libres de la mitocondria para evitar su acumulación. Se ha descrito que la función de la UCP3 es la de exportar aniones de ácidos grasos fuera de la matriz mitocondrial. Estos aniones de ácidos grasos proceden de la hidrólisis de los acil-CoA por una tiolesterasa mitocondrial. Los ácidos grasos se intercambian con protones, explicando así su papel desacoplante, y evitan, además, su acumulación en la matriz mitocondrial.

Además, la UCP3 puede impedir los efectos tóxicos de un metabolismo excesivo de ácidos grasos. Una cantidad excesiva de ácidos grasos libres en el músculo esquelético incrementa su captación y subsiguiente β-oxidación, con lo que aumenta la relación ATP/ADP. Un descenso del ADP puede limitar la β-oxidación y conduce, además, a un estado reducido a la cadena respiratoria, lo que puede llevar a la producción de especies reactivas de oxígeno tóxicas. Por lo tanto, la UCP3 puede ser considerada como un tampón electroquímico

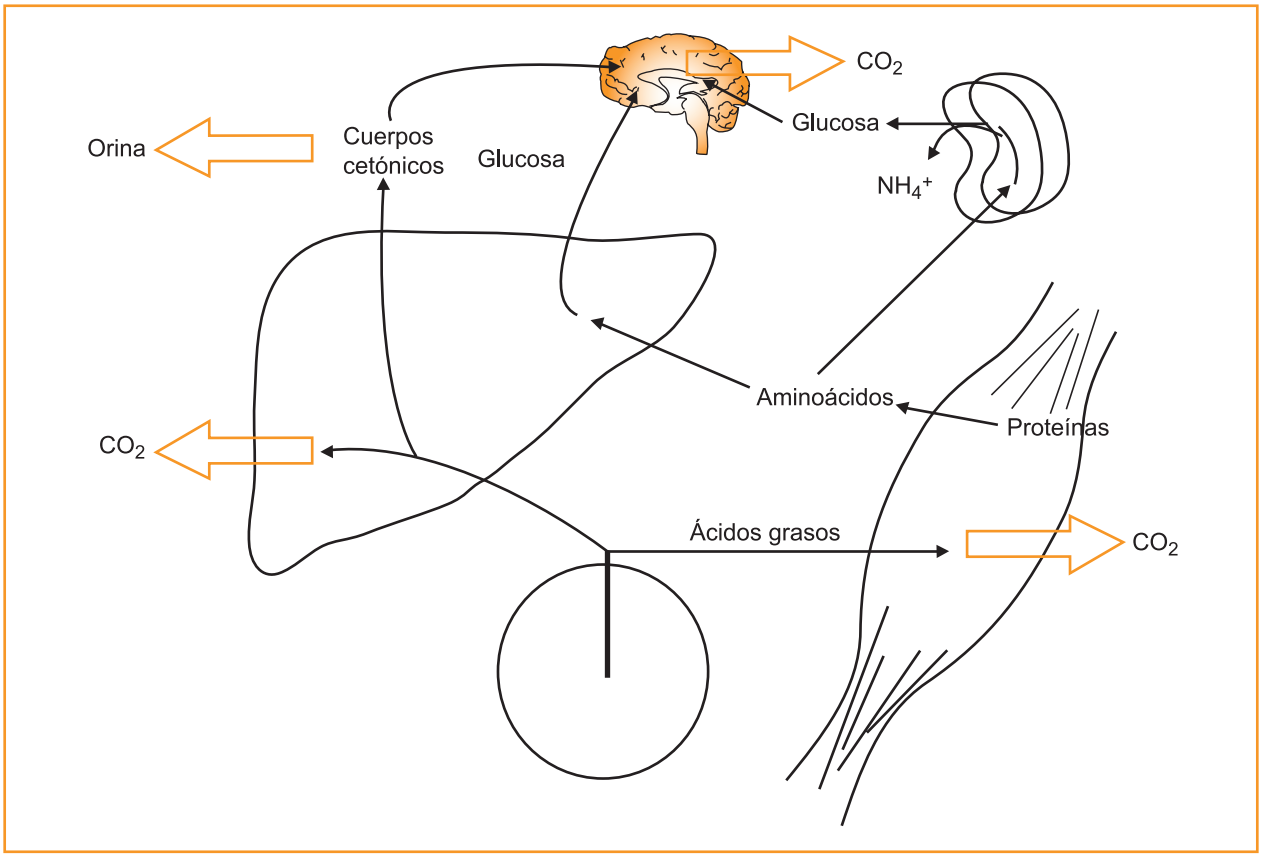


Figura 12. *Relaciones intertisulares en el ayuno prolongado.*

cuya regulación positiva puede contribuir a mantener la relación adecuada de ATP/ADP a través de un desacoplamiento suave en la mitocondria.

Es posible que exista una regulación coordinada de la lipasa sensible a hormonas y de la UCP-3 en el músculo esquelético, y también parece posible que los ácidos grasos liberados por la actividad lipasa sensible a hormonas dentro del músculo contribuyan a la inducción de la expresión de la UCP-3.

En cerdos parece existir una evidencia clara de que la expresión incrementada de la UCP-3 en el músculo esquelético es una de las adaptaciones metabólicas. También se produce un incremento del mRNA de la lipasa sensible a hormonas y un descenso de la lipoproteína lipasa en respuesta al ayuno en tejido adiposo y en el músculo esquelético. Es probable que la UCP-3 durante el ayuno controle la utilización de ácidos grasos como combustibles, posiblemente protegiendo frente a cambios desfavorables en la relación ATP/ADP que podría derivarse de la oxidación excesiva de ácidos grasos.

4.4. Ayuno prolongado (a partir del 4º día)

En el ayuno prolongado las concentraciones sanguíneas de cuerpos cetónicos que en condiciones normales son prácticamente indetectables, incluso con métodos enzimáticos, se elevan y permanecen constantes hasta alrededor de 8 mM. Este aumento de hasta 10 veces durante el periodo de entre los 2 y los 24 días, a pesar de que sólo hay una elevación muy pequeña de ácidos grasos y de que la glucosa permanece prácticamente constante, no se debe al aumento de producción por el hígado. Este incremento puede deberse a una reducción gradual de su utilización por el músculo y a un aumento de su velocidad de reabsorción glomerular por el riñón. El músculo capta en el tercer día de ayuno suficientes cuerpos cetónicos para cubrir el 50% de sus necesidades energéticas y sólo el 10% el día 24. Hay una menor utilización por los tejidos periféricos, con la excepción del cerebro **(Figura 12)**.

Este hecho se ha demostrado también en el ayuno muy prolongado en pacientes obesos. Después de 6 semanas cambia el patrón de utilización de cuerpos cetónicos, de manera que sólo contribuyen a un 10% de la energía requerida por los músculos esquelético y cardiaco, obteniendo la energía restante de los ácidos grasos libres. Esto tiende a conservar los cuerpos cetónicos para el cerebro y el riñón, que para entonces son altamente dependientes de ellos. Además, la concentración incrementada de cuerpos cetónicos inhibe la proteólisis muscular, posiblemente al inhibir la oxidación de la leucina. Está claramente demostrado que el cerebro, al cabo de 1 semana de ayuno, puede obtener sus tres cuartas partes de energía de la oxidación de los cuerpos cetónicos.

Incluso desde la primera semana de ayuno se ha demostrado que la excreción de nitrógeno alcanza un nivel bajo próximo a 5 g diarios, y la gluconeogénesis produce del orden de 74 g de glucosa por día. Unos 39 g derivan del lactato, 19 g de glicerol y 16 g de aminoácidos, principalmente glutamina, en el riñón. Esta disminución en la degradación de la proteína muscular permite que la masa muscular se mantenga y que el ayuno se pueda prolongar por más tiempo, hasta que los triacilgliceroles del tejido adiposo se agoten.

Durante esta etapa del ayuno se puede producir una disminución del pH sanguíneo, debido a la elevación en los niveles de compuestos ácidos tales como los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos. En esta situación, la glutamina procedente del músculo participa en el riñón en la regulación del pH, eliminando los H^+ como NH_4^+ (sales amónicas) y su esqueleto carbonado se utiliza como sustrato gluconeogénico.

El control endocrino del metabolismo energético en los estados avanzados de ayuno es bastante complicado. Aunque el glucagón y la insulina son todavía importantes, otras hormonas adquieren un papel prominente. Durante el ayuno prolongado se produce una disminución en el consumo de oxígeno y menor gasto energético. Éste disminuye progresivamente durante el ayuno y se ha demostrado que lleva consigo una disminución de la conversión de T_4 en T_3 y una elevación de la forma inactiva rT_3. La hormona tiroidea T_3 estimula la degradación de proteínas. El descenso en su concentración en sangre durante el ayuno prolongado puede ayudar a reducir la proteólisis.

4.5. Realimentación

Es necesario distinguir si la realimentación se produce tras un ayuno nocturno o si se trata de un ayuno prolongado, la situación de las rutas metabólicas no es la misma y, por lo tanto, tampoco lo es la adaptación a la nueva situación.

4.5.1. Realimentación tras el ayuno nocturno

Después del ayuno nocturno, ayuno de unas 12 horas, con el desayuno, que debe ser rico en hidratos de carbono, se incrementa la liberación de insulina. Esto origina unos cambios en el organismo para adaptarse a esta nueva situación. Entre los cambios más rápidos del metabolismo tras la ingestión de comida, después del ayuno, está la supresión de la movilización de los combustibles endógenos.

Se frena la producción de glucosa por el hígado y la liberación de ácidos grasos del tejido adiposo, con lo que se preservan los almacenes endógenos de nutrientes y se cambia la utilización de los nutrientes de la dieta y se almacena su exceso.

La presencia de hidratos de carbono en el duodeno estimula la liberación de hormonas intestinales que hacen que las células β-pancreáticas sean más sensibles a la glucosa y hacen que se libere insulina. Así, un pequeño aumento en la concentración de glucosa portal aumenta mucho la secreción de insulina. A pesar de la gran capacidad del hígado para captar glucosa, parte de ella pasa a la circulación sistémica para ser utilizada por la mayoría de los tejidos que consumen glucosa tras una comida rica en hidratos de carbono.

Dentro del hígado, la elevación de la relación insulina/glucagón desactiva la gluconeogénesis y la glucogenólisis y activa la síntesis de glucógeno. Si la concentración de glucosa es muy alta en sangre portal, el hígado podrá almacenarla. La elevación de la concentración de glucosa en vena porta inhibe la fosforilasa hepática al hacerle mejor sustrato de la proteína fosfatasa; de esa forma se inhibe la glucogenólisis y aumenta la glucógeno-síntesis.

En el músculo esquelético se capta gran cantidad de glucosa, porque la insulina activa al GLUT4 y también a las enzimas implicadas en la síntesis de glucógeno y en la glucólisis. Como la lipó-

lisis en tejido adiposo se inhibe, los ácidos grasos descienden en el plasma y su efecto inhibidor sobre el consumo de glucosa disminuye en los tejidos periféricos, lo que facilitará la captación de glucosa.

La liberación de ácidos grasos libres no esterificados del tejido adiposo se suprime por la insulina y se rellenan cuando se incrementa el aporte de nutrientes. La supresión de la lipólisis se produce por la desfosforilación de la lipasa sensible a hormonas. La disminución del aporte de ácidos grasos libres al hígado suprime la secreción de VLDL.

Si la comida contiene lípidos, la llegada de los mismos a la circulación será más lenta. Los triacilgliceroles de la dieta se convierten en quilomicrones en los enterocitos y tras su paso por la linfa salen a la circulación sanguínea por el conducto torácico. La insulina, liberada en repuesta a la comida, incrementa la actividad de la lipoproteína lipasa del tejido adiposo, con lo que aumenta la captación de ácidos grasos de los quilomicrones por el tejido adiposo; también el músculo esquelético participa en este proceso. Estos ácidos grasos, procedentes de los quilomicrones, esterifican el glicerol-fosfato obtenido a partir de glucosa, dando lugar a triacilgliceroles que se almacenan.

Los aminoácidos procedentes de la dieta son utilizados en parte por los enterocitos, especialmente la glutamina que se utiliza como combustible. El resto de aminoácidos llega al hígado, el cual retira parte de ellos, y a la circulación sistémica pasa un conjunto de aminoácidos con un contenido elevado de los ramificados y un bajo contenido de glutamina. Estos aminoácidos son retirados por el músculo para ser oxidados.

La velocidad de la síntesis de proteínas en el músculo está regulada por hormonas y por el ejercicio físico. La insulina, que se encuentra elevada, activa la entrada de los aminoácidos al músculo, en especial los ramificados.

4.5.2. Realimentación tras el ayuno prolongado

Tras un periodo prolongado de ayuno se produce una alteración grave de la morfología del intestino delgado, así como una alteración de la función digestiva. El ayuno provoca una atrofia de las vellosidades intestinales y la reducción drástica de actividades de las enzimas en borde en cepillo intestinales tales como sacarasa, maltasa y aminopeptidasas. La atrofia de la mucosa es consecuencia de la falta de sustratos proteicos y la disminución de las actividades enzimáticas de la falta de sustratos específicos (hidratos de carbono para las oligosacaridasas y proteínas para las aminopeptidasas).

Por ello, es muy importante tener en cuenta esta situación en la realimentación tras un periodo prolongado de ayuno. En estos casos, se debe comenzar con la alimentación por vía parenteral para regenerar el epitelio intestinal y recuperar la actividad de las enzimas digestivas.

La respuesta metabólica a la realimentación después de un periodo largo de ayuno es semejante a la del ayuno corto con relación a los lípidos de la dieta. Sin embargo, hay diferencia respecto a los hidratos de carbono y los aminoácidos.

Durante el ayuno prolongado hay una reducción muy marcada en la degradación de proteínas musculares y de otros tejidos y en la actividad máxima de las enzimas del metabolismo de aminoácidos en hígado y otros tejidos. Esto ha llevado a plantear cuál debe ser la alimentación razonable en sujetos que estén recuperándose de un ayuno prolongado.

Una ingesta rica en proteínas, unida a la baja capacidad del metabolismo de aminoácidos, podría llevar a un aumento notable de su concentración en sangre y tejidos, haciendo que la velocidad de desaminación exceda a la del ciclo de la urea, con lo que la concentración de amoniaco podría alcanzar niveles tóxicos.

5. Resumen

- En este Capítulo se ha tratado de dar una visión general del metabolismo de los diferentes tejidos, destacando las peculiaridades metabólicas de cada uno de ellos, así como sus funciones específicas. Se han incluido tanto los que tienen una función importante en la regulación del metabolismo como tejidos que no participan en la regulación y que requieren un aporte continuo de glucosa. Hay que destacar, en especial, el papel del hígado como órgano central en el control del metabolismo y también el del tejido adiposo y el del músculo esquelético.

- En primer lugar, se ha abordado el estudio de la regulación de la glucemia por las hormonas: glucagón, adrenalina y glucocorticoides, que son hiperglucemiantes, y por la insulina, que es la única hormona hipoglucemiante.

- Se han analizado las relaciones entre los tejidos en diferentes situaciones metabólicas. En el periodo posprandial el organismo absorbe los diferentes componentes de la dieta y, de acuerdo con su naturaleza, son distribuidos y utilizados por los distintos tejidos. Éstos los utilizan como combustibles energéticos y si llegan en exceso, en algunos casos, se almacenan. En esta etapa se rellenan las reservas de glucógeno en el hígado y en el músculo esquelético y se almacenan triacilgliceroles en el tejido adiposo.

- Durante el ayuno nocturno, se degrada el glucógeno hepático para mantener la glucemia y se comienza a sintetizar glucosa a partir de lactato y alanina procedente del músculo esquelético. Hacia el final de este periodo comienza la degradación de triacilgliceroles para suministrar ácidos grasos al músculo. Ya en el ayuno temprano, la gluconeogénesis adquiere un papel preponderante, se sigue degradando proteína muscular y la degradación de triacilgliceroles por el tejido adiposo para liberar ácidos grasos como combustibles para los tejidos periféricos se hace más patente. Así, el músculo esquelético, la corteza renal y el corazón los utilizan de forma importante, y el hígado comienza la síntesis de cuerpos cetónicos.

- En el ayuno prolongado, se reduce la velocidad de la degradación de la proteína muscular y la gluconeogénesis, el cerebro ha pasado a utilizar con preferencia cuerpos cetónicos y ya no se necesita degradar de forma tan activa la proteína muscular. Los demás tejidos frenan el consumo de cueros cetónicos para preservarlos para el cerebro.

- En la realimentación tras el ayuno nocturno se produce una situación semejante a la posprandial. Sin embargo, en la realimentación tras el ayuno, temprano o prolongado, hay que considerar que en la situación de la que se parte las enzimas están alteradas en su actividad y/o cantidad y es necesario tener precaución para no llegar a producir una situación patológica.

6. Bibliografía

Devlin TM. Bioquímica, 3ª ed. Reverté. Barcelona, 1999.
Es un libro de Bioquímica bastante completo, en el que se pueden encontrar aspectos de regulación metabólica, características específicas de tejidos y relaciones con la patología.

Gibney MJ, McDonald I, Roche H. Nutrition and Metabolism. Nutrition Society. Blackwell Publishing. Oxfordshire, 2003.
Es un libro muy útil para revisar temas tanto desde el punto de vista del metabolismo como de aspectos de nutrición.

Kinney JM, Jeejeebhoy KN, Hill GL, Owen OE. Nutrition and Metabolism. Saunders Company. Philadelphia, 1988.
Es un libro muy útil para revisar temas tanto desde el punto de vista del metabolismo como de aspectos de nutrición.

Mathews CK, Van Holde, Ahern KE. Bioquímica, 3ª ed. Addison Wesley. Madrid, 2002.
Manual de Bioquímica muy completo y actualizado, con un enfoque muy adecuado para hacer fácil su utilización.

Murria RK, Granner Dk, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Illustrated Biochemistry, 26th ed. Lang Medical Books/McGraw-Hill. New York, 2003.
Libro muy completo y muy actualizado, que relaciona la Bioquímica humana con las alteraciones patológicas y la medicina molecular.

Nelson DL, Cox MM, Lehninger AL. Principios de Bioquímica, 3ª ed. Omega. Barcelona, 2001.
Manual clásico de Bioquímica que proporciona unos conceptos muy claros en las rutas metabólicas y las interrelaciones entre los distintos tejidos y órganos.

Newsholme EA, Leech AR. Bioquímica médica. Interamericana. Madrid, 1986.
Es éste un texto de Bioquímica que presenta aspectos muy útiles acerca del metabolismo de los tejidos y de las interrelaciones entre los mismos en distintas situaciones.

Salway JG. Una ojeada al metabolismo, 2ª ed. Omega. Barcelona, 2002.
Proporciona una visión del metabolismo muy amplia, así como aspectos de algunas patologías.

Stryer L, Berg JM, Tymoczko JL. Bioquímica, 5ª ed. Reverté. Barcelona, 2003.
Manual clásico de Bioquímica que proporciona unos conceptos muy claros en las rutas metabólicas, su regulación y las interrelaciones metabólicas entre los distintos tejidos.

7. Enlaces web

- meds.queensu.ca/medicine/biochem/courses/MetabolismStarvationDiabetes
- www.bi.umist.ac.uk/users/mjfasja/2MCD/default.asp
- www.unu.edu/unupress/food2/UID07E/uid07e0r.htm

1.18. Regulación del balance energético y de la composición corporal

María del Puy Portillo Baquedano ■ José Alfredo Martínez Hernández

Capítulo 1.18.

Regulación del balance energético y de la composición corporal

1. Introducción

2. Ingesta de alimento

2.1. Bases fisiológicas de su regulación

2.2. Sustancias involucradas en la regulación del apetito

2.2.1. Neuropéptidos orexígenos

2.2.2. Neuropéptidos anorexígenos

2.2.3. Aminas

2.2.4. Proteínas reguladoras

2.3. Alteraciones genéticas relacionadas

2.3.1. Estudios en modelos animales

2.3.2. Estudios en humanos

2.4. Factores dietéticos que influyen en la ingesta

3. Gasto energético

3.1. Componentes del gasto energético

3.2. Alteraciones genéticas relacionadas

3.2.1. Estudios en modelos animales

3.2.2. Estudios en humanos

3.3. Influencia del estilo de vida en el gasto energético

4. Acumulación de grasa en tejido adiposo

4.1. Adipogénesis

4.1.1. Bases fisiológicas

4.1.2. Alteraciones genéticas relacionadas

4.1.3. Influencia de factores dietéticos

4.2. Lipogénesis y lipólisis

4.2.1. Bases fisiológicas

4.2.2. Alteraciones genéticas relacionadas

4.2.3. Importancia del estilo de vida

4.3. Distribución de macronutrientes

4.3.1. Bases fisiológicas

4.3.2. Alteraciones genéticas relacionadas

4.3.3. Importancia del estilo de vida

5. Resumen

6. Bibliografía

7. Enlaces web

Objetivos

- Identificar los procesos fisiológicos y metabólicos involucrados en el control del peso y la composición corporal.
- Conocer las sustancias responsables de la regulación de la ingesta a corto y largo plazo.
- Describir las alteraciones genéticas que pueden ocasionar alteraciones en la regulación de la ingesta de alimento.
- Comparar los efectos saciantes de los diferentes macronutrientes.
- Describir los diferentes componentes del gasto energético.
- Conocer la importancia de la eficacia en la utilización de la energía contenida en los nutrientes en la regulación del peso corporal.
- Describir las alteraciones genéticas que pueden conducir a un reducido gasto energético.
- Comprender la influencia del estilo de vida en el gasto energético de los individuos.
- Definir los procesos metabólicos que condicionan el depósito de lípidos en el tejido adiposo.
- Exponer la influencia de factores genéticos y ambientales en la acumulación de grasa corporal.

1. Introducción

El balance entre la energía ingerida y el gasto calórico es el principal factor determinante del peso corporal en los adultos. Dado que los depósitos de glucógeno y de proteínas varían poco, la regulación del peso corporal hace referencia fundamentalmente a la regulación del tamaño de los depósitos grasos. El ser humano está dotado de un sistema muy complejo para el control energético, integrado por numerosos procesos que, en ocasiones, resultan redundantes. Este sistema permite a la mayoría de los adultos mantener estable el peso corporal durante periodos de tiempo prolongados, pese a las fluctuaciones diarias en el balance de energía. Es importante señalar que este sistema está mejor preparado para hacer frente a situaciones de aporte de energía limitado que a situaciones de exceso de ingesta, es decir, que es más eficaz combatiendo la pérdida de peso que evitando el exceso del mismo. Esta situación ayuda a explicar en parte la elevada prevalencia de obesidad en nuestros días.

En la actualidad, está teniendo lugar un claro incremento de la prevalencia de obesidad en las sociedades desarrolladas. La coexistencia de obesidad en varios miembros de una misma familia ha suscitado el interés por el estudio del papel de los factores genéticos en el desarrollo de esta patología. De hecho, cuando uno de los padres es obeso la probabilidad de que los hijos lo sean alcanza el 50%, proporción que se eleva al 80% si ambos padres son obesos. Los resultados obtenidos en estudios basados en la evolución de niños en contacto con los padres biológicos y los adoptivos, y los realizados con gemelos monozigóticos criados separadamente, enfatizan la importancia de las influencias genéticas. Por otra parte, la gran variabilidad interindividual en la respuesta a la dieta y la predisposición al sobrepeso y la obesidad reflejan la variabilidad genética de los mecanismos corporales de control del peso corporal.

Pese a todo ello, el incremento en la prevalencia de obesidad no puede ser explicado por un repentino cambio genético, ya que este tipo de cambios se va produciendo a lo largo de generaciones. Esto indica que los factores ambientales pueden tener una importancia considerable. El proceso de modernización y reestructuración socioeconómica en países desarrollados y en vías de desarrollo ha modificado los modelos dietéticos y la actividad física. Aunque no se conocen del todo bien todos los factores involucrados en la rápida expansión de la obesidad, se cree que la gran disponibilidad de alimentos de gran densidad energética y los estilos de vida sedentaria presentan una clara implicación. En definitiva, los fallos en la regulación del peso corporal conducentes al desarrollo de sobrepeso y obesidad son el resultado de la interacción entre factores genéticos y factores ambientales. Se estima que el 40-70% de la variación en los fenotipos relacionados con la obesidad es hereditaria, mientras que las influencias ambientales podrían explicar al menos el 30% de los casos de obesidad.

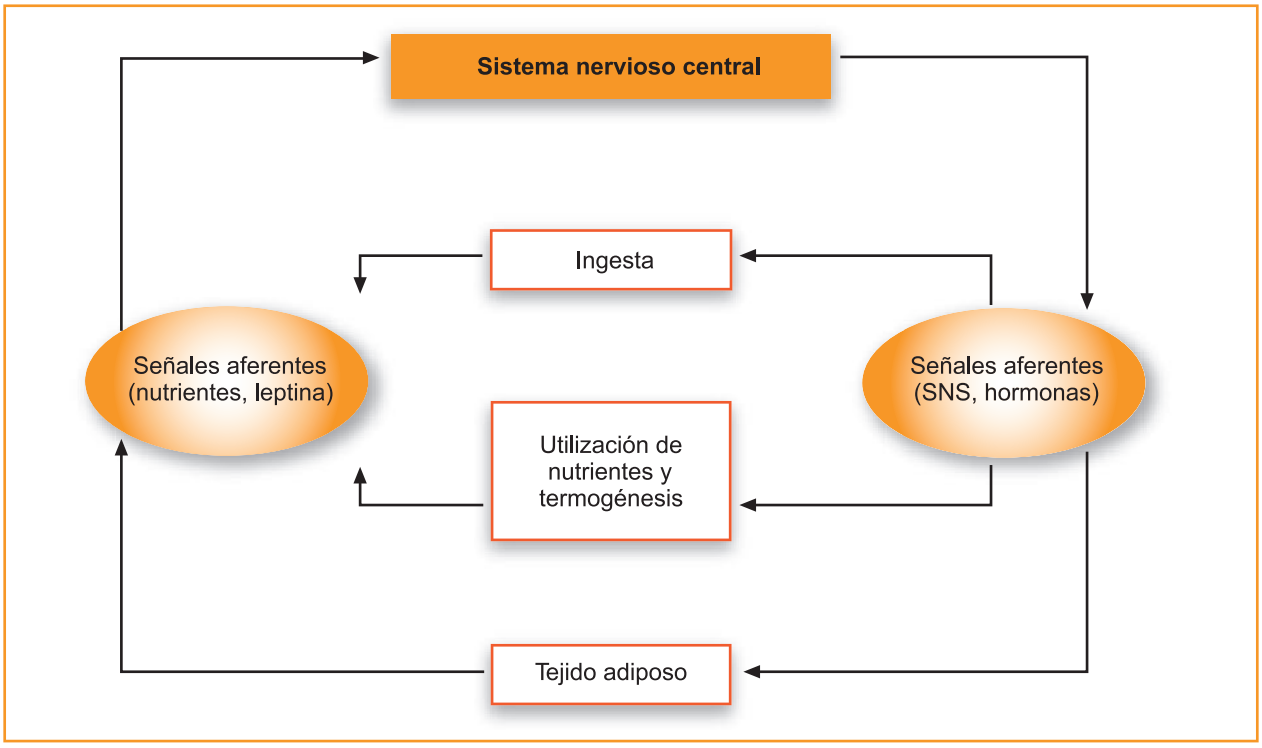


Figura 1. *Esquema representativo de algunos de los mecanismos generales implicados en la regulación del peso y la composición corporal.*

En el presente Capítulo se analiza el papel de la dotación genética de los individuos y el estilo de vida en la regulación de la ingesta de alimentos y del gasto energético, así como en diversas rutas metabólicas determinantes de la acumulación de grasa corporal **(Figura 1)**.

2. Ingesta de alimento

2.1. Bases fisiológicas de su regulación

Los procesos responsables del control de la ingesta de alimento, tanto en lo que respecta a la cantidad como al tipo de alimento, dependen no sólo de señales internas sino también de factores ambientales entre los que se incluyen los hábitos sociales, las características organolépticas y la presentación de los alimentos, que hacen que éstos resulten más o menos apetitosos y atractivos. El complejo y heterogéneo sistema endógeno que controla la ingesta incluye el aparato gastrointestinal, los nutrientes circulantes, los depósitos de grasa y de glucógeno, el metabolismo celular, el sistema nervioso periférico, que se encarga de trasmitir las señales, y el sistema nervioso central **(Tabla 1)**.

El hipotálamo, y fundamentalmente su núcleo arqueado, recibe señales nerviosas y hormonales, procedentes principalmente del aparato digestivo y del tejido adiposo, que regulan la actividad de los circuitos neuroquímicos centrales que determinan el apetito, coordinando así la conducta de ingesta con las necesidades del organismo, a corto y a largo plazo. Los núcleos arqueado y paraventricular del hipotálamo reciben señales de tipo neural (vagales y catecolaminérgicas, fundamentalmente) y de tipo hormonal (insulina, colecistokinina, leptina, glucocorticoides, etc.), y modulan la liberación de péptidos que regulan el apetito **(Figura 2)**.

La regulación a corto plazo implica una serie de factores encargados de determinar el inicio y el final de una comida. Las señales que recibe el cerebro en relación con las reservas de algunos nutrientes son clave para esta regulación. Así, la aparición de hipoglucemia, como importante señal

Tabla I. SUSTANCIAS IMPLICADAS EN LA REGULACIÓN DE LA INGESTA DE ALIMENTO A CORTO Y LARGO PLAZO

Aumento de la ingesta	Disminución de la ingesta
Corticosterona	Noradrenalina (receptores α_1)
Noradrenalina (receptores α_2)	Serotonina
GABA	Urocortina
Dinorfina	Bombesina
β-endorfina	Colecistokinina
β-casomorfina	Péptido YY
Endocanabinoides	Enterostatina
Neuropéptido Y	Insulina
Galanina	GLP-1, GLP-2
MCH	Neurotensina
Orexinas A y B	Oxitocina
AGRP	Somatostatina
Ghrelina	Leptina
	α-MSH
	CART
	TRH
	CRH
	Citokinas

GABA: ácido γ-aminobutírico; MCH: hormona concentrada de melanina; AGRP: péptido relacionado con la proteína Agouti; GLP: péptido análogo al glucagón; α-MSH: hormona estimulante de los melanocitos; CART: transcrito regulado por cocaína y anfetamina; TRH: hormona liberadora de TSH (tirotropina); CRH: hormona liberadora de ACTH (corticotropina).

nutricional, pone en marcha una serie de medidas fisiológicas, entre las que se encuentra la aparición de la sensación de hambre, destinadas a contrarrestar la situación. Por el contrario, la ingestión de nutrientes estimula la secreción de péptidos gastroenteropancreáticos, que no sólo coordinan las funciones digestivas, sino que además transmiten señales de saciedad. Estos péptidos actúan:

1. Localmente de forma paracrina.
2. En la circulación de forma endocrina.
3. En el sistema nervioso central.

Dentro de estos péptidos cabe señalar la colescistoquinina (CCK), el péptido 1 análogo al glucagón (GLP-1, ***G****lucagon* ***L****ike* ***P****eptide-****1***), la enterostatina, la neuromedina B (NMB), el péptido liberador de gastrina (GRP, ***G****astrin-****R****eleasing* ***P****eptide*), el péptido YY (PYY), la leptina gástrica, la amilina y el glucagón. Estos péptidos, de efecto saciante, son producidos por células endocrinas del aparato digestivo y por fibras nerviosas locales en respuesta a la presencia de alimento en el tracto gastrointestinal y actúan en el sistema nervioso central, donde se unen a receptores específicos, contribuyendo así a la finalización de las comidas individuales. Estos péptidos actúan de forma sinérgica con otras señales fisiológicas como la distensión gástrica.

En la regulación a largo plazo el organismo establece una serie de mecanismos cuyo objetivo es el mantenimiento del peso corporal y en especial de las reservas de grasa en el tejido adiposo.

2.2. Sustancias involucradas en la regulación del apetito

2.2.1. Neuropéptidos orexígenos

Neuropéptido Y. El NPY es uno de los péptidos más abundantes en el cerebro. Las fibras nerviosas NPY-érgicas, procedentes en gran parte de somas neuronales ubicados en el núcleo arqueado, se proyectan principalmente hacia el núcleo paraventricular del hipotálamo, donde ejercen un efecto hiperfágico de gran trascendencia fisiológica, defendiendo al organismo de la desnutrición. De

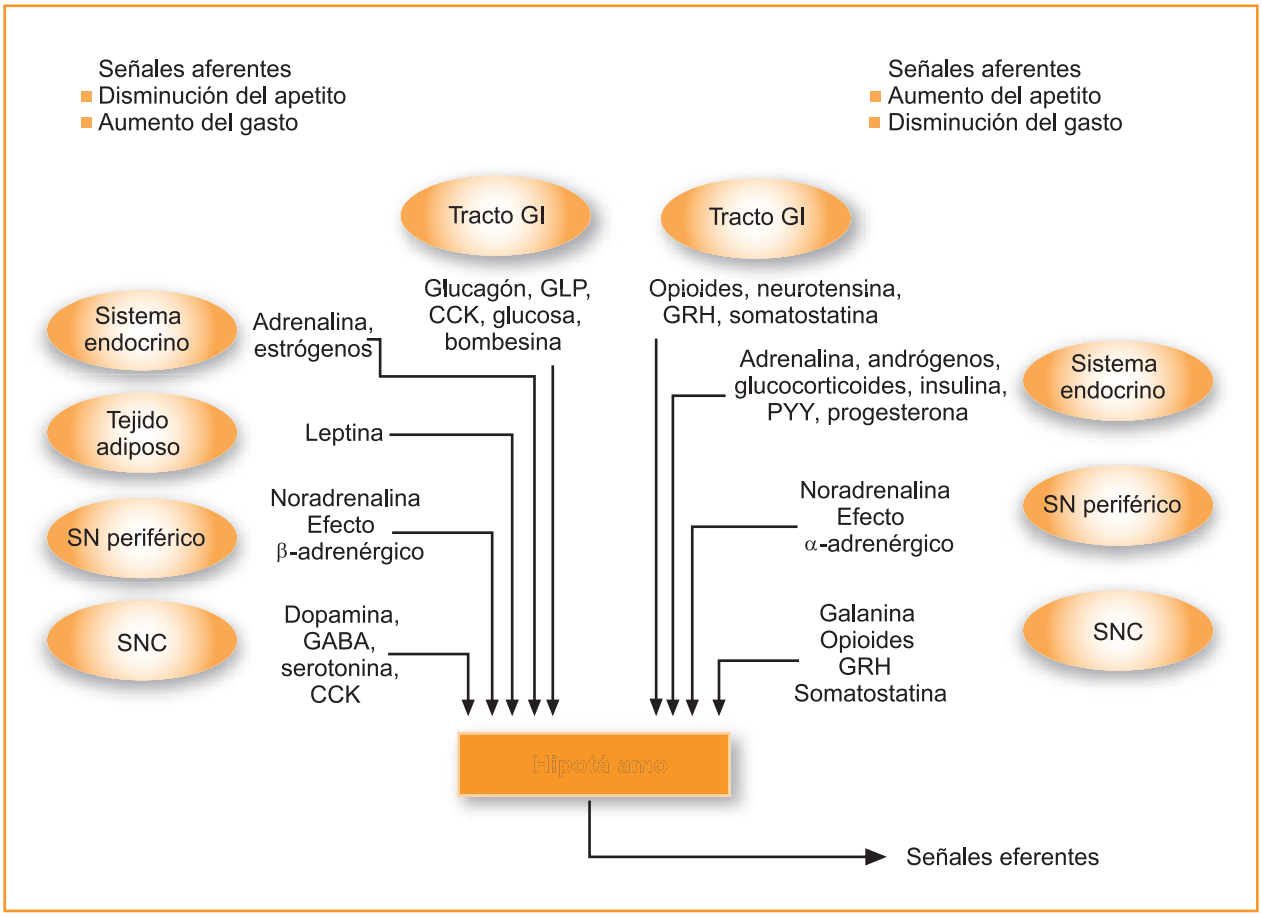


Figura 2. *Moléculas reguladoras de la ingesta de alimento y del gasto energético. SNC: sistema nervioso central; GI: gastrointestinal; GABA: ácido γ-aminobutírico; CCK: colecistokinina; GLP:* **G**lucagon-**L**ike **P**eptide*; GRH: hormona liberadora de GH; PYY: péptido YY.*

hecho, su administración intracerebroventricular en animales de experimentación desencadena una notable hiperfagia, preferentemente de hidratos de carbono y agua, y obesidad. Su principal función es estimular el apetito y la ganancia de peso, evidenciándose que sus niveles hipotalámicos aumentan de manera fisiológica durante el ayuno y disminuyen con la realimentación. También actúa sobre el gasto energético disminuyéndolo, mediante un efecto inhibidor de la acción del sistema simpático.

Péptido relacionado con la proteína Agouti (AGRP). Este péptido fue descubierto en el cerebro humano durante la búsqueda de análogos endógenos de la proteína Agouti. El AGRP se caracteriza porque se coexpresa junto con el NPY en determinadas neuronas del núcleo arqueado del hipotálamo y se distribuye hacia el núcleo paraventricular. Este péptido presenta, al igual que el NPY, una potente acción estimulante del apetito y de la ganancia de peso corporal tras su administración central.

Hormona concentradora de melanina (MCH). La MCH se sintetiza en el área lateral del hipotálamo. Se sobre-expresa en situaciones de ayuno y tras su administración estimula la ingesta. Por el contrario, la inactivación del gen que codifica para MCH da lugar a ratones hipofágicos y delgados. El receptor de MCH es todavía mal conocido. Existe un receptor acoplado a una proteína G, el HMCR-1 y, recientemente se ha descubierto otro, el HMCR-2, pero hay que profundizar en el conocimiento de ambos para entender bien su papel en la alimentación y peso corporal.

Orexinas. Estas moléculas son producidas por neuronas situadas en el área lateral del hipotálamo. Cuando se inyectan intracerebroventricularmente

estimulan la ingesta de alimentos. A su vez, en situaciones de ayuno se observa una elevada expresión de su mRNA. En la actualidad se conocen dos tipos, la orexina A y la B, que son codificadas por un mismo gen y proceden de una pre-proorexina común, aunque la síntesis de cada una de ellas se produce en neuronas independientes cuyas terminales se extienden por diferentes áreas del sistema nervioso central. Parece que la producción de orexinas está regulada por la leptina y la insulina, ya que el 50% de las neuronas productoras de orexinas expresan receptores para la leptina y, por otra parte, se ha comprobado su activación ante hipoglucemia inducida por insulina. También se han relacionado las orexinas con la ingesta de líquidos y con el sueño. De hecho, una de sus funciones fisiológicas más importantes parece ser la coordinación de los ritmos de sueño e ingesta, actuando sobre los circuitos hipotalámicos NPY-érgicos.

Galanina. Las neuronas que producen galanina se encuentran ampliamente distribuidas en el sistema nervioso, siendo especialmente abundantes en el hipotálamo. Aunque la administración central de galanina induce un efecto hiperfágico, su papel real en la regulación de la ingesta y el peso corporal no es totalmente conocido. Sin embargo, parece intervenir en la regulación de la ingesta de grasas y el metabolismo lipídico, que coordina con su intervención en procesos tan dispares como el control de la conducta reproductiva o la regeneración del tejido nervioso.

Péptidos opioides. Estas moléculas son agentes neuromoduladores de amplia distribución en el sistema nervioso que participan en muchas y muy variadas funciones fisiológicas, tales como la nocicepción, la regulación de los estados emocionales en relación con los mecanismos cerebrales de recompensa, la reproducción, la actividad de los centros respiratorios y la coordinación de todo ello con el control de la ingesta. En este último caso actúan a tres niveles:

a) En el tronco del encéfalo, regulando el dintel de saciedad en función de la palatabilidad de los alimentos.

b) En el hipotálamo, condicionando el apetito en función de las características energéticas del alimento y el estado interno del animal.

c) En la amígdala cerebral, donde modulan la apetencia por la comida de acuerdo con las preferencias del sujeto.

2.2.2 *Neuropéptidos anorexígenos*

Hormona α-melanocito estimulante (α-MSH). Este péptido se origina a partir de un precursor, la proopiomelanocortina (POMC) que da lugar también a otro neuromodulador cerebral, la β-endorfina. Se expresa en neuronas del núcleo arqueado que proyectan sus fibras hacia diversas regiones hipotalámicas, tales como el núcleo paraventricular y el área hipotalámica lateral. Tras su administración central ejerce un efecto anorexígeno, actuando sobre su receptor específico MC4. Dado que el AGRP, coexpresado en muchas neuronas NPY-érgicas, es un antagonista fisiológico de este receptor, el balance entre la acción de los circuitos hipotalámicos de melanocortinas y NPY es de gran importancia para la regulación de la ingesta y gasto de energía.

Transcrito regulado por cocaína y anfetamina. El transcrito regulado por cocaína y anfetamina (CART) se expresa en el núcleo arqueado, concretamente en neuronas POMC/α-MSH, y tiene un marcado efecto anorexígeno cuando se inyecta en el sistema ventricular del cerebro, debido a su acción agonista fisiológica sobre el receptor de melanocortinas MC4. El CART inhibe el apetito actuando sobre el núcleo paraventricular pero no modifica el gasto de energía.

Hormonas liberadoras de corticotropina (CRH) y tirotropina (TRH). El CRH o CRF es, además de una hormona que viaja por el sistema portahipofisario para regular la secreción de ACTH, y por tanto la respuesta suprarrenal frente al estrés, un agente neuromodulador en el hipotálamo lateral y sus regiones cerebrales. Su papel preciso en la regulación del apetito parece ser precisamente el control del apetito en situaciones de amenaza para el organismo, ejerciendo un efecto anorexígeno.

De hecho, su administración central reduce la ingesta. También produce un aumento de la termogénesis en tejido adiposo marrón debido a un incremento del tono simpático. El TRH, una hormona hipotalámica estimulante de la secreción hipofisaria de TSH, actúa también como agente neuromodulador y produce un efecto inhibidor de la ingesta de alimento y de líquido tras su administración intracerebroventricular.

Péptidos afines a glucagón (GLP). Esta familia de neuropéptidos que se procesan tanto

en intestino como en hipotálamo está formada por el GLP-1, GLP-2 y oxintomodulina.

En humanos se ha comprobado que la administración intravenosa de estos péptidos se acompaña de sensación de saciedad e induce disminución de la ingesta. Además, el GLP-1 tiene importantes efectos en la reducción de la glucemia a través de diferentes mecanismos.

2.2.3. Aminas

Noradrenalina. Los circuitos noradrenérgicos cerebrales, responsables de la activación general del sistema nervioso central, se originan en el *locus coeruleus* troncoencefálico y proyectan sus fibras hacia distintas regiones prosencefálicas, entre las que se cuenta el hipotálamo, regulando entre otras funciones el apetito. La acción de la noradrenalina depende del tipo de receptores a los que se une. Cuando interacciona con receptores α_2 en el núcleo paraventricular del hipotálamo produce un incremento de la ingesta de alimento, así como preferencia por los alimentos hidrocarbonados. Sin embargo, cuando se une a receptores α_1 en el núcleo paraventricular y a receptores β en el área lateral del hipotálamo ejerce los efectos contrarios.

Serotonina. Las vías serotoninérgicas cerebrales se originan esencialmente en los núcleos del rafe mesencefálico y ejercen un importante efecto inhibidor del apetito a nivel hipotalámico, que contribuye a la coordinación de la ingesta con los ritmos de sueño, la conducta reproductiva y otras funciones del organismo. La serotonina (5-hidroxi-triptamina) ejerce efectos anorexígenos al interaccionar con receptores específicos 5-HT 2A en los núcleos paraventricular y ventromedial del hipotálamo, siendo ésta la causa más probable del característico efecto inhibidor del apetito de ciertos fármacos antidepresivos que elevan los niveles sinápticos del neurotransmisor, como es el caso de la fluoxetina. También se ha relacionado a la serotonina con las preferencias alimentarias.

Dopamina. Los sistemas dopaminérgicos cerebrales intervienen en la regulación de las conductas emocionales. El apetito no es una excepción, y las neuronas del sistema dopaminérgico mesolímbico, ubicadas en el área tegmental ventral del mesencéfalo, que proyectan sus fibras hacia el estriado y diversas regiones diencefálicas, condicionan que el sujeto pase de la motivación a la acción y ejecute el proceso de ingesta. El efecto inhibidor de esta amina sobre el apetito está mediado por receptores D_2.

Histamina. También presenta un efecto anorexígeno que está mediado por receptores H_1 presentes en diferentes regiones hipotalámicas.

2.2.4. Proteínas reguladoras

Leptina. La leptina es una hormona segregada fundamentalmente por el tejido adiposo blanco, que atraviesa la barrera hematoencefálica y llega al núcleo arqueado del hipotálamo. Tras interaccionar con receptores específicos ROb, actúa sobre las neuronas que coexpresan NPY y AGRP inhibiendo la síntesis y liberación de estos dos neuropéptidos orexígenos. Además, la leptina actúa sobre neuronas que coexpresan POMC y CART, dos neuropéptidos anorexígenos, estimulando su síntesis y liberación **(Figura 3)**. A través de estos efectos inhibidores y estimulantes de la producción de neuropéptidos cerebrales, la leptina produce una disminución de la ingesta de alimento y un aumento del gasto de energía. La leptina informa a los centros superiores de la magnitud de las reservas grasas para que se pongan en marcha mecanismos destinados al control de dichas reservas, a través de la regulación de la ingesta a largo plazo. De esta forma, la leptina interviene en el control lipostático de la ingesta de alimento. Además, esta proteína tiene múltiples acciones periféricas, tales como la estimulación de la lipólisis en el tejido adiposo.

Insulina. Esta hormona accede al sistema nervioso central a través de un sistema de transporte saturable y, una vez allí, interacciona con receptores específicos, que son especialmente abundantes en el núcleo arqueado del hipotálamo, e inhibe la producción de NPY en dicho núcleo, produciendo una disminución de la ingesta de alimento. La insulina, al igual que la leptina, interviene en el control lipostático de la ingesta ya que sus concentraciones plasmáticas son proporcionales a las reservas grasas. Numerosos trabajos han demostrado que cuando se administra insulina exógena directamente en el cerebro (tercer ventrículo) los animales comen menos y pierden peso. La interpretación del papel de la insulina en el balance energético no

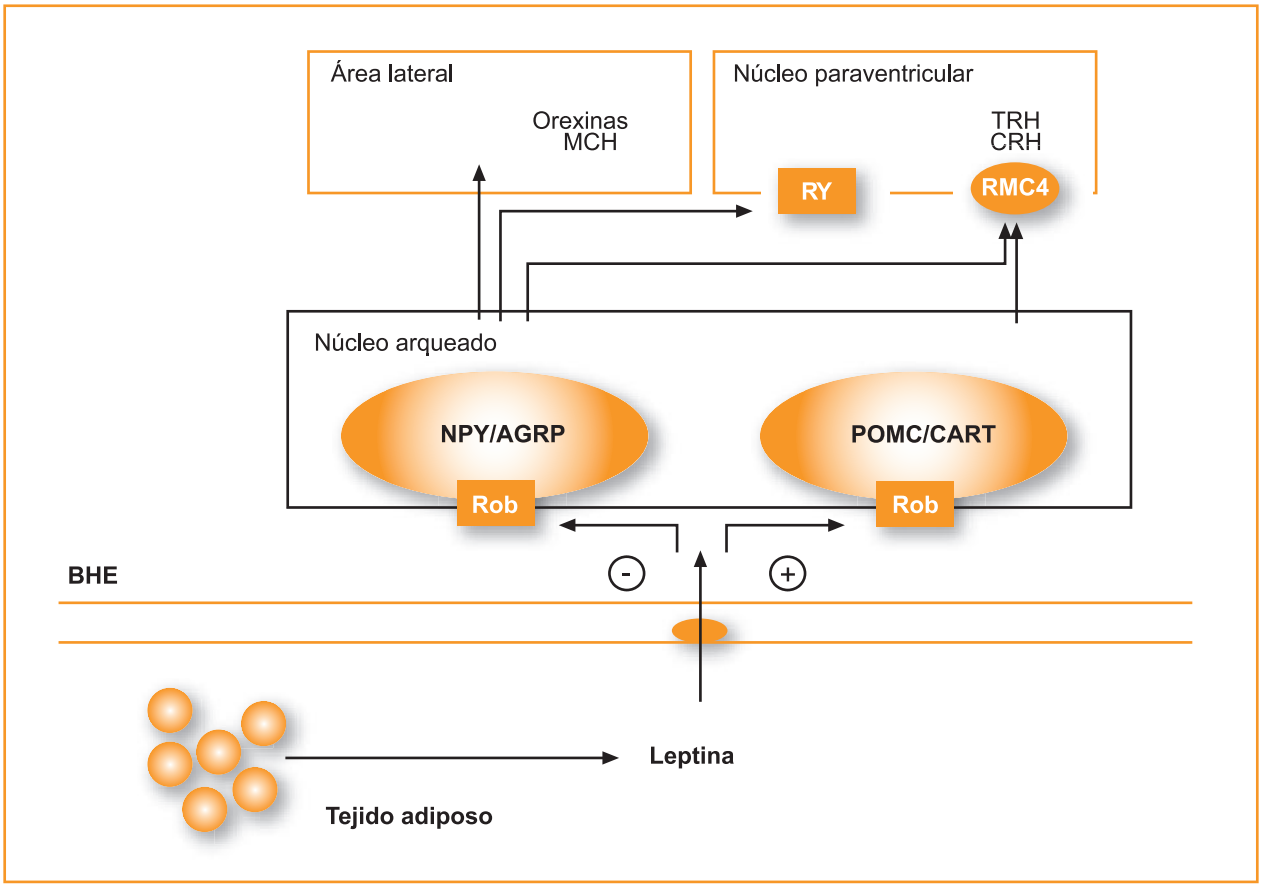


Figura 3. *Circuitos neuronales reguladores del apetito modulados por leptina. NPY: neuropéptido Y; AGRP: péptido relacionado con la proteína Agouti; POMC: proopiomelanocortina; CART: transcrito regulado por cocaína y anfetamina; MCH: hormona concentradora de melanina; TRH: hormona liberadora de tirotropina; CRH: hormona liberadora de corticotropina; RY: receptor específico para NPY (Y_1 e Y_5); RMC4: receptor MC4 para α-MSH; Rob: receptor de leptina; BHE: barrera hematoencefálica.*

es sencilla, ya que por una parte reduce la ingesta de alimento, pero también favorece el aprovechamiento de los nutrientes ingeridos y la deposición de grasa en el tejido adiposo. Además, es importante distinguir el efecto directo de la insulina cuando actúa a nivel hipotalámico, del efecto producido por las concentraciones de glucosa en sangre. Así, mientras que la insulina es una hormona que reduce el apetito, la reducción de la concentración de glucosa que produce es un estímulo para la ingesta.

Ghrelina. Es una hormona de efectos orexígenos secretada fundamentalmente en el estómago y en el duodeno. Estudios llevados a cabo, tanto en humanos como en animales de experimentación, han puesto de manifiesto que las concentraciones de ghrelina son elevadas en ayunas y disminuyen tras la ingesta de alimento. También se ha visto que los individuos obesos presentan concentraciones de esta proteína más bajas que los individuos con normopeso y que tras una restricción energética las concentraciones plasmáticas descienden. No obstante, el retorno a los niveles basales después de la ingestión de una comida es más rápido que en los sujetos normales.

Se cree que la ghrelina permite la comunicación entre la regulación de la ingesta a corto y a largo plazo. Así, no sólo regula la magnitud de la ingesta en cada comida sino también el peso corporal a largo plazo. Los dos grupos de poblaciones neuronales presentes en el núcleo arqueado del hipotálamo, las neuronas orexígenas que coexpresan NPY y AGRP y las anorexígenas que coexpresan POMC y CART, además de disponer de receptores específicos para

leptina, presentan receptores para ghrelina. Los efectos de la ghrelina sobre estas poblaciones de neuronas son los contrarios a los descritos para la leptina; por tanto, favorece la síntesis y liberación de NPY y AGRP. Por otra parte, algunos estudios han demostrado que la leptina disminuye las concentraciones circulantes de ghrelina.

2.3. Alteraciones genéticas relacionadas

2.3.1. Estudios en modelos animales

Los péptidos que controlan los ciclos de hambre-saciedad y la magnitud de las comidas, es decir, involucrados en el control de la ingesta a corto plazo, no suelen ser importantes en la regulación del peso corporal. Así, los ratones que no disponen del receptor CCK-A de colecistoquinina (*knockout* CCK-A) no responden al estímulo saciante de esta hormona, pero mantienen un peso corporal normal. Algo similar ocurre con ratones que presentan mutaciones en los receptores para neuromedina B y para GLP-1.

En relación con el NPY cabe señalar que existen diversos modelos de animales obesos en los que existe una sobreexpresión de este neuropéptido en diferentes regiones hipotalámicas y fundamentalmente en el núcleo arqueado. En estos modelos, la rata Zucker *fa*/*fa*, el ratón obeso *ob*/*ob* y el ratón diabético *db*/*db*, la hiperfagia asociada a la sobreexpresión de NPY está involucrada en el origen de la obesidad. A la vista de estos hechos, cabría suponer que en una cepa de ratones que posee una alteración genética que condiciona un déficit de NPY (*knockout* NPY) se produjera una drástica reducción de la ingesta de alimento y una pérdida de peso corporal; sin embargo, esto no ocurre. Estos ratones mantienen un patrón de ingesta y una ganancia de peso corporal normales. Estos hechos sugieren que en ocasiones, cuando se produce un déficit en uno de los principales sistemas de señalización del sistema nervioso central, pueden ponerse en marcha mecanismos compensadores redundantes.

Existen también alteraciones relacionadas con el sistema melanocortinérgico, formado por el receptor MC4, su agonista (α-MSH) y su antagonista (AGRP). Así, una mutación del gen que codifica para el receptor MC4 produce hiperfagia y obesidad en ratones. En cuanto al agonista del receptor, la α-MSH, los modelos de obesidad anteriormente mencionados, la rata Zucker *fa*/*fa*, el ratón obeso *ob*/*ob* y el ratón diabético *db*/*db*, presentan niveles hipotalámicos más bajos de este neurotransmisor, que se relacionan con la hiperfagia que se aprecia en estos animales. También ratones *knockout* para POMC, el precursor de la α-MSH, presentan hiperfagia y desarrollan obesidad.

Por otra parte, existe un tipo de ratón llamado ratón Agouti obeso amarillo (A^{vy}/a) en el que la proteína Agouti se expresa, no sólo en los folículos pilosos, sino también en otros tejidos, incluido el hipotálamo, debido a una mutación en su promotor génico. La proteína, en este caso, es capaz de antagonizar la unión de la α-MSH no sólo al receptor 1 de melanocortina del pelo (MC1), sino también a los receptores 3 y 4 (MC3 y MC4) que se encuentran en el hipotálamo, evitando la acción anorexígena de esta hormona, y estimulando por tanto el apetito. El resultado es una obesidad de aparición tardía que se asocia a hiperfagia y a una pigmentación anómala de pelo de color amarillo. Otro modelo animal en el que se produce una alteración del sistema melanocortinérgico es el ratón transgénico que sobreexpresa la proteína Agouti (AGRP), que en circunstancias normales sólo se expresa en el sistema nervioso central, en diversos tejidos. Este ratón presenta un tipo de obesidad similar a la observada en el ratón obeso amarillo (A^{vy}/a).

Hasta ahora se han descrito modelos animales de obesidad asociada a alteraciones genéticas, pero existen también modelos animales en los que las alteraciones genéticas producen una ingesta de alimento y un peso corporal reducidos; tal es el caso del ratón *knockout* para MCH.

En los modelos rata Zucker *fa*/*fa*, ratón obeso *ob*/*ob* y ratón diabético *db*/*db*, en los que se producen alteraciones en la expresión de determinados neuropéptidos reguladores del apetito, también existen alteraciones en el sistema leptinérgico. Así, el ratón *ob*/*ob* posee una mutación en el gen que codifica para la leptina y, como consecuencia de ello, el tejido adiposo blanco de estos ratones no produce leptina, lo que conduce a una notoria obesidad. En el ratón *db*/*db* y en la rata Zucker *fa*/*fa* existe una mutación en el gen que codifica para el receptor de leptina. En el caso del ratón *db*/*db*,

el receptor es más corto de lo normal, le falta el brazo del receptor que tendría que situarse en la zona intracelular. La mutación *fa* en la rata Zucker afecta al dominio extracelular del receptor. Debido a estas alteraciones en el receptor se produce una hiperleptinemia asociada a una resistencia a la leptina.

Se cree que en estos tres últimos modelos de obesidad animal, las alteraciones en la expresión de los neuropéptidos reguladores pueden ser consecuencia de una incorrecta señalización leptinérgica a nivel hipotalámico. Así, dado que la leptina en las neuronas hipotalámicas productoras de α-MSH/CART produce un efecto estimulante, la falta de estímulo leptinérgico producirá una disminución de la liberación de α-MSH, que es lo que se observa en estos animales; por otra parte, dado que la leptina en las neuronas hipotalámicas productoras de NPY/AGRP produce un efecto inhibidor, la falta de estímulo leptinérgico producirá un aumento de la liberación de NPY, que es otro fenómeno que también se observa en estos animales.

Otra mutación descrita en el modelo de ratón *fat* es la encontrada en el gen que codifica para la carboxipeptidasa E. Esta enzima está involucrada en el procesamiento de prohormonas tales como la proinsulina o la POMC. Concretamente actúa eliminando el residuo carboxilo terminal. Se cree que esta mutación causa obesidad debido a la disminución de la producción de insulina y de α-MSH, péptidos que a nivel hipotalámico producen señales de saciedad. También en relación con la insulina existe un modelo de obesidad con hiperfagia, el ratón *tubby*. Este modelo presenta una mutación natural que podría afectar a la señalización por insulina en el cerebro. La obesidad que presenta se debe a la pérdida de función de la proteína tub, que se expresa de forma abundante en el hipotálamo y que podría funcionar normalmente como una proteína de anclaje, mediando la asociación de proteínas intracelulares al receptor de insulina activado **(Tabla 2)**.

2.3.2. Estudios en humanos

Algunos de estos defectos observados en animales de experimentación han podido ser descritos también en seres humanos. Estudios en obesos mórbidos han demostrado la existencia de mutaciones en el receptor MC4 hasta en un 4-5% de los casos analizados. Los individuos con estas mutaciones presentan una conducta alimentaria de atracones. Este fenotipo condiciona un mal pronóstico para el tratamiento de su obesidad. En poblaciones de obesos, sin embargo, no se han detectado mutaciones en la región del gen de POMC que codifica para la α-MSH.

En relación con la leptina, es importante señalar que en la mayoría de individuos obesos no existen mutaciones en el gen que codifica para esta proteína y por tanto las concentraciones plasmáticas de leptina no son bajas, como en el caso del ratón obeso *ob*/*ob*. Por el contrario, dado que la leptina es producida por el tejido adiposo blanco, los obesos, con una masa adiposa mayor de lo normal, presentan concentraciones plasmáticas de leptina superiores a las de los individuos con normopeso. Defectos en el gen *ob* sólo han sido detectados en algunos casos aislados. Así, se encontraron dos niños de la misma familia, con obesidad mórbida, que presentaban una alteración consistente en la carencia de un nucleótido de guanina en el codón 133 del gen *ob*. Consecuentemente, presentaban concentraciones de leptina sérica muy bajas a pesar de su gran masa adiposa.

Dado que la respuesta esperada ante un incremento de los niveles de leptina es una reducción de la ingesta y un incremento del gasto energético, fenómenos que no se aprecian en los obesos, se podría pensar en la posible existencia de una resistencia a la leptina en estos individuos. Uno de los posibles mecanismos responsables de un fenómeno de resistencia es un defecto en el sistema transportador situado en la barrera hematoencefálica, concretamente una alteración del receptor ob-Ra presente en los plexos coroideos de dicha barrera. También podría ocurrir que las elevadas concentraciones de leptina produjeran una *down-regulation* de los receptores ob-Ra que actúan de transportadores. Sin embrago, no parece probable que estos hechos sean los que ocurran en la realidad, ya que el sistema transportador de leptina en la barrera hematoencefálica es un sistema saturable y, por tanto, a partir de una determinada concentración de leptina en sangre (aproximadamente 25 ng/ml) ya no se produce un incremento en la captación.

Otra posibilidad de explicar la resistencia a la leptina sería la presencia de alteraciones en la forma larga del receptor de leptina (ob-Rb)

Tabla 2. MODELOS ANIMALES QUE PRESENTAN ALTERACIONES EN GENES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DE LA INGESTA DE ALIMENTO

Gen	Función	Tipo de mutación	Fenotipo
Leptina	Señal de anorexia	Natural (ratón *ob/ob*)	Obesidad
Receptor de leptina	Anorexia	Natural (ratón *db/db,* rata *fa/fa*)	Obesidad
Receptor MC4	Anorexia	*Knockout*	Obesidad
α-MSH	Señal de anorexia	*Knockout*	Obesidad
POMC	Señal de anorexia	Natural (ratón *db/db,* rata *fa/fa*)	Obesidad
NPY	Señal orexígena	*Knockout*	Normal
		Sobre-expresión natural (ratón *db/db*, rata *fa/fa*)	Obesidad
Receptores Y1, Y5	Efecto orexígeno	*Knockout*	Obesidad moderada
Agouti	Antagonista MC4R	Expresión ectópica de Agouti	
		Natural (ratón amarillo A^{vy}/a)	Obesidad
AGRP	Antagonista MC4R	Sobre-expresión transgénica	Obesidad
MCH	Señal orexígena	*Knockout*	Bajo peso
Receptor neuromedina B	Señal de saciedad	*Knockout*	Normal
Receptor GLP-1	Señal de saciedad	*Knockout*	Normal
Carboxipeptidasa E	Procesado de insulina y POMC	Natural (ratón *fat)*	Obesidad
Proteína Tub	Transducción cascada insulina	Natural (ratón *tubby)*	Obesidad

α-MSH: hormona estimulante de los melanocitos; POMC: proopiomelanocortina; NPY: neuropéptido Y; AGRP: péptido relacionado con la proteína Agouti; MCH: hormona concentrada de melanina; GLP: péptido análogo al glucagón.

presente en el hipotálamo, tal y como ocurre en la rata Zucker obesa *fa/fa* o en el ratón diabético *db/db*. Sin embargo, este tipo de alteraciones no ha sido detectado. Sí se han encontrado algunas variaciones en algunas regiones del gen del receptor ob-Rb, que sólo afectan a un nucleótido, por lo que no acarrean cambios en la secuencia aminoacídica del receptor. También se han encontrado casos de sustitución de una glutamina por una arginina, pero no parece probable que este hecho sea causa de resistencia a la leptina, ya que se encuentra tanto en individuos obesos como en individuos con normopeso.

En definitiva, la resistencia a la leptina no se justifica por alteraciones en sus receptores específicos. Al igual que en el caso de la mutación en el gen que codifica para la leptina, se ha encontrado un caso aislado de tres chicas jóvenes que presentan un receptor ob-Rb truncado carente de los dominios transmembrana e intracelular, que presentan una obesidad mórbida.

Dado que la gran mayoría de los casos de obesidad no se deben ni a un déficit en la producción de leptina ni a errores en sus receptores, se plantea la posibilidad de que la ineficacia de la leptina se deba a errores en la cascada de señalización tras la unión de la leptina a sus receptores.

No se han descrito mutaciones en la carboxipeptidasa E en humanos; sin embargo, recientemente se ha descubierto un caso de mutación en la prohormona convertasa, una endoproteasa que procesa las mismas prohormonas que la carboxipeptidasa E, justo antes de que ella actúe. Esta mutación, que genera un fenotipo similar al encontrado en el ratón *fat*, constituye un caso aislado.

2.4. Factores dietéticos que influyen en la ingesta

Los estudios destinados a determinar la influencia de los diferentes nutrientes sobre la ingesta de alimento son muy numerosos. En la mayoría de ellos se ha puesto de manifiesto que un déficit agudo de energía es rápidamente compensado en la siguiente comida. Por otra parte, un déficit de uno de los macronutrientes no conduce a un aumento de la ingesta de ese nutriente en concreto en la comida siguiente, sino más bien a un incremento de la ingesta de energía en una cantidad de calorías equivalente. Al contrario, un exceso de un macronutriente en una comida sí produce una reducción de la ingesta del mismo en la siguiente.

No todos los macronutrientes producen el mismo efecto saciante. Los hidratos de carbono son capaces de incrementar la saciedad a corto plazo y, por tanto, de disminuir la ingesta de alimento en la comida en la que están incluidos. Los lípidos generan menor saciedad a corto plazo. El efecto saciante de la grasa, a más largo plazo, está mediado por la liberación de CCK en las células de la mucosa de la parte superior del intestino delgado. Esta hormona estimula los receptores CCK-A en la región pilórica del estómago generando una señal que viaja por vía vagal al tracto solitario y a los núcleos paraventricular y dorsomedial del hipotálamo. Así pues, las señales de saciedad se generan en un espacio de tiempo mucho mayor, de tal forma que la cantidad de calorías que se ha podido ingerir antes de que se generen estas señales es elevada. La saciedad inducida por las proteínas también está mediada por la CCK. Además, algunos aminoácidos también ejercen un efecto saciante por ellos mismos, tal es el caso del triptófano y la fenilalanina.

Uno de los errores característicos del patrón de alimentación de los países desarrollados es el exceso de grasa. Mientras que las recomendaciones dietéticas indican que los lípidos deben representar el 30-35% de la energía total de la dieta, es muy frecuente que representen un 38-42%. Dado que la prevalencia de obesidad en estos países va incrementando, se piensa que este alto contenido de grasa en la dieta es en parte responsable del incremento de la obesidad en la población. Esta hipótesis viene avalada por diversos hechos. Así, el alto contenido de grasa confiere a la dieta una elevada palatabilidad. Éste es un factor de gran importancia en la regulación de la cantidad de energía ingerida. Así, dietas de alta palatabilidad generan ingestas de energía altas. Este fenómeno ha podido ser observados en animales de experimentación. Existe un modelo de obesidad inducida por dieta llamado de cafetería que consiste en ofrecer a las ratas, además del pienso propio de animales de laboratorio, un surtido a discreción de alimentos de gran palatabilidad: galletas con mantequilla y con leche condensada, chocolate, patatas fritas, beicon, *foie-gras*. Bajo estas condiciones de alimentación las ratas ingieren una cantidad de calorías muy superior a la que ingieren con una alimentación normal y, consecuentemente, engordan. En el caso de los seres humanos una buena palatabilidad de la dieta también produce altas ingestas energéticas.

Se han llevado a cabo algunos trabajos destinados a analizar los posibles efectos producidos por la palatabilidad de la dieta en los neuropéptidos reguladores de apetito, con el fin de comprender mejor la relación que existe entre la palatabilidad y la ingesta. Estos estudios han puesto de manifiesto un aumento de las concentraciones de mRNA de NPY en el núcleo arqueado del hipotálamo en animales alimentados con una dieta de elevada palatabilidad (alta en grasa y en azúcares) respecto a los alimentados con una dieta normal. Debido a que, como ya se ha expuesto, el NPY es un neuropéptido con un potente efecto orexígeno, este incremento puede ser una de las razones que explican el incremento de ingesta de energía provocada por las dietas de alta palatabilidad.

Por otra parte, las dieta ricas en grasa presentan una elevada densidad energética, es decir, aportan más calorías con un volumen y peso de alimento más pequeños (mientras que los hidratos de carbono y las proteínas rinden 4 kcal/g, las grasas aportan 9 kcal/g). También es importante recordar algo que ya se ha expuesto anteriormente: las dietas hipergrasas producen menor saciedad a corto plazo, lo que permite ingerir más comida. Por todo lo expuesto, seguir dietas excesivamente ricas en grasa hace ingerir un exceso de calorías de forma casi inevitable. Finalmente, es preciso señalar que existe una teoría que afirma que la ingesta de nutrientes se regula para conseguir mantener la constancia en los depósitos de glucógeno. En este sentido, las dietas ricas en grasa y pobres en hidratos de carbono pueden conducir a un incremento en la ingesta de alimento para mantener los depósitos de glucógeno.

Tabla 3. CONTRIBUCIÓN PORCENTUAL AL METABOLISMO BASAL DE DISTINTOS ÓRGANOS Y ZONAS DEL ORGANISMO

Órgano	Peso absoluto (kg)	Porcentaje del peso corporal	Porcentaje del metabolismo basal
Hígado	1,5	2,10	26,4
Sistema nervioso	1,4	2,00	18,3
Corazón	0,3	0,43	9,2
Riñones	0,3	0,43	7,2
Músculo esquelético	27,8	39,70	25,6
Total	**31,3**	**44,66**	**86,7**

Los valores hacen referencia a un varón de 70 kg.

A pesar de las evidencias expuestas existe controversia acerca de la hipótesis de que el exceso de ingesta de grasa favorece la aparición de obesidad. Los argumentos en los que se basan los investigadores que no creen en esta relación son:

a) Hay muchos estudios epidemiológicos en los que no se encuentra una correlación significativa entre la ingesta de grasa y el índice de masa corporal.

b) La prevalencia de obesidad continúa creciendo en EE UU a pesar de que se está consiguiendo reducir la ingesta de grasa. En algunos estudios en los que se ha alimentado a individuos con dietas hiperlipídicas o hipolipídicas se han observado diferencias en el peso corporal final de los individuos a corto plazo, pero estas diferencias desaparecen a largo plazo. A la vista de estos hechos, algunos autores sugieren que a largo plazo pueden actuar una serie de mecanismos compensatorios de naturaleza desconocida, que dejarían sin efecto los cambios en el aporte lipídico de la dieta y, además, señalan que convendría examinar la posibilidad de que existan diferentes susceptibilidades entre los individuos frente a las dietas ricas en grasas o en hidratos de carbono.

3. Gasto energético

3.1. Componentes del gasto energético

La energía neta obtenida a partir de los alimentos se destina a cubrir gastos correspondientes al metabolismo basal, la actividad física y la acción térmica de los alimentos. En ciertas situaciones fisiológicas, tales como el crecimiento, el embarazo y la lactancia, una parte del aporte energético también se destina a la formación de estructuras corporales, al desarrollo del feto y a la producción de leche, respectivamente. Así, durante la gestación, la energía requerida para el desarrollo del feto y de los tejidos maternos (placenta, útero, glándulas mamarias y tejido adiposo) puede representar un total de 80.000 kcal. Durante la lactancia, la cantidad de energía requerida para producir la leche es de aproximadamente 800 kcal/día en el primer semestre y 640 kcal/día en el segundo semestre, parte de la cual proviene de los depósitos de grasa que la madre ha ido acumulando a lo largo del embarazo.

El metabolismo basal (MB), que representa el 65-75% del gasto energético total en individuos sedentarios, es aquella fracción del gasto energético destinada al mantenimiento de las funciones vitales, que se emplea en procesos que participan en funciones como la actividad cardio-respiratoria, la excreción, el mantenimiento de la temperatura corporal, la transmisión de señales, el mantenimiento del tono muscular y la síntesis de biomoléculas. Este componente del gasto energético corresponde a la suma de los gastos metabólicos de cada uno de los órganos y sistemas, fundamentalmente corazón, hígado, sistema nervioso, riñón y músculo (Tabla 3).

El valor del MB se correlaciona mejor con la masa magra que con el peso corporal o la superficie corporal, ya que mientras que los tejidos no grasos presentan un elevado gasto energético, el

Tabla 4. CARACTERÍSTICAS DE HIDRATOS DE CARBONO Y LÍPIDOS QUE INFLUYEN EN SUS EFECTOS SOBRE LA ACUMULACIÓN DE GRASA CORPORAL

Hidratos de carbono	Lípidos
Densidad energética: 4 kcal/g	Densidad energética: 9 kcal/g
Elevada termogénesis obligatoria	Baja termogénesis obligatoria
Inducen la termogénesis facultativa	No inducen la termogénesis facultativa
Ingesta relacionada con su oxidación	Ingesta poco relacionada con su oxidación
Almacenamiento en forma de grasa (25% de coste energético)	Almacenamiento en forma de grasa (3% de coste energético)
Saciedad a corto plazo	Saciedad a largo plazo

tejido adiposo tiene una baja actividad metabólica en relación con el resto del cuerpo. Por ello, las situaciones fisiológicas o patológicas que condicionan cambios en la masa magra producen cambios en la tasa metabólica basal. En este sentido, cabe señalar que los varones presentan valores de MB mayores que las mujeres, y los atletas, mayores que los individuos sedentarios, debido a su mayor masa muscular, y que con el envejecimiento se va produciendo una reducción progresiva del MB debido a la reducción de la masa magra. En lo que respecta a los obesos, su MB es mayor que el de los individuos con normopeso debido a que el desarrollo del tejido adiposo conlleva también un cierto incremento de la masa magra, que presenta una elevada actividad metabólica; aproximadamente el 75% del exceso de peso corresponde a grasa corporal y el 25% a masa magra. Es importante no confundir este hecho con la posibilidad de que una menor tasa metabólica basal por unidad de masa magra en los individuos obesos pueda hacer que éstos presenten una mayor predisposición a la acumulación de grasa corporal.

La actividad física es el segundo componente del gasto energético; hace referencia tanto al ejercicio físico programado como a la actividad física espontánea. Es el componente más variable entre los individuos, ya que depende de la intensidad, la duración y la frecuencia con que se realice la actividad, así como del peso corporal del individuo.

Un tercer componente del gasto energético es la termogénesis, que puede ser inducida por la dieta o por otros factores, como el frío, la cafeína o el tabaco. La termogénesis secundaria a la alimentación es la más importante y comprende dos componentes, la termogénesis obligatoria y la facultativa. La termogénesis obligatoria es el consumo de energía destinado a los procesos de digestión, absorción, transporte, metabolismo y almacenamiento de nutrientes. La termogénesis facultativa es el resultado de la estimulación de la actividad simpática por parte de algunos nutrientes, con producción de calor por desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. En una dieta mixta, la termogénesis total inducida por los alimentos no es superior al 10-15% del gasto energético total. El gasto que genera cada macronutriente, tanto en lo que respecta a su utilización metabólica como a la termogénesis facultativa, es diferente. Las proteínas conllevan la mayor parte del consumo (15-25%), frente a valores intermedios de los glúcidos (8-12%) y menores de los lípidos (3-4%) **(Tabla 4)**.

Cuando la temperatura ambiental baja, llega un momento en que se requiere producir calor para mantener la temperatura corporal. Esta producción de calor recibe el nombre de termogénesis inducida por el frío; puede ser una termogénesis con escalofrío, en la cual las contracciones musculares generan calor, o termogénesis sin escalofrío, que es el resultado de la estimulación simpática del tejido adiposo marrón. La termogénesis también puede verse estimulada por el consumo de tabaco, siendo la nicotina la responsable de este efecto.

El mecanismo de termogénesis facultativa mejor conocido es el que tiene lugar en el tejido adiposo marrón de los mamíferos. Se produce gracias a la existencia de una proteína desacoplante o termogenina (UCP_1: ***UnCoupling Protein***), transportadora

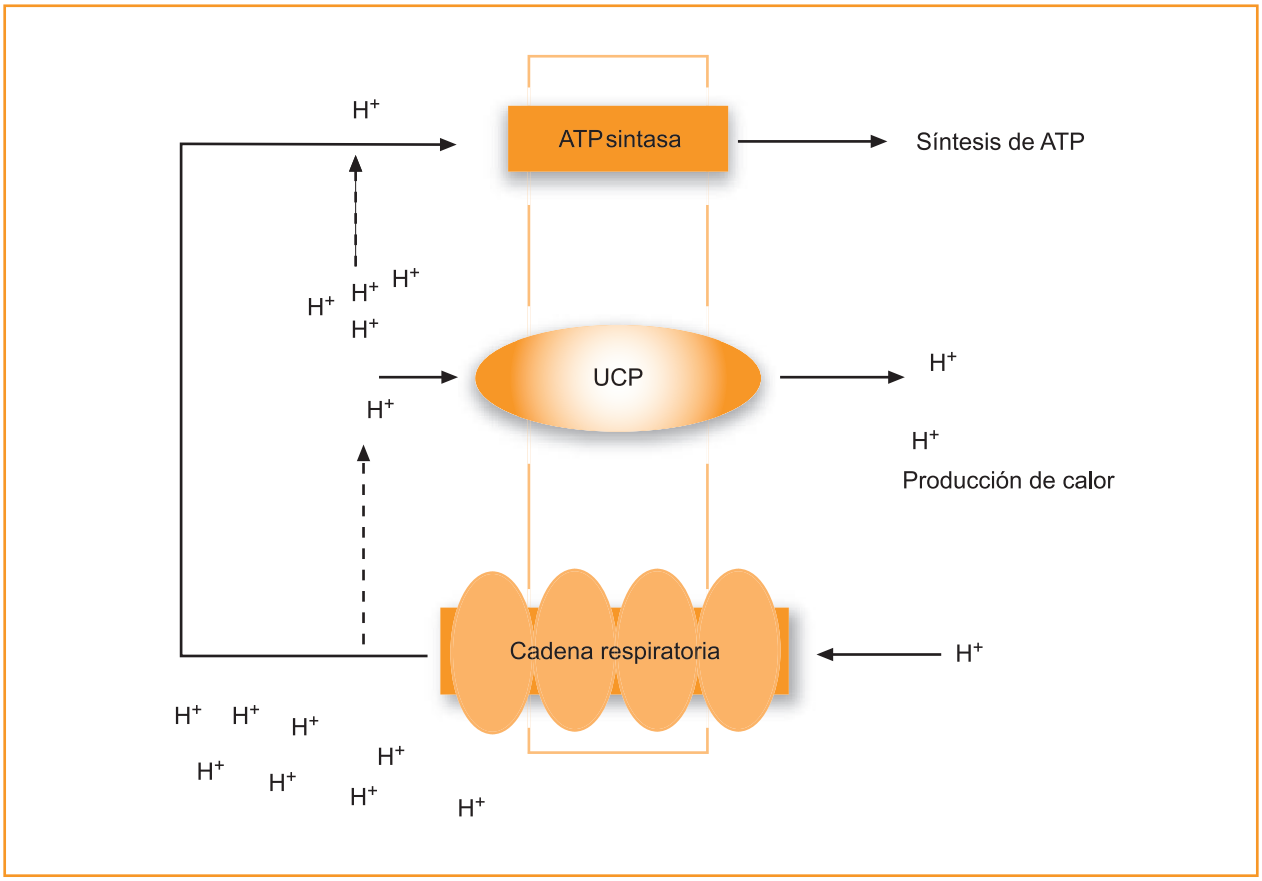


Figura 4. *Mecanismo de acción de la UCP_1. Normalmente la energía liberada en el transporte electrónico de la cadena respiratoria se destina a la síntesis de ATP. Cuando se activa la termogénesis la mayor parte de esa energía se pierde en forma de calor y sólo una pequeña parte entra en la ruta de síntesis de ATP. UCP: proteína desacoplante (***Un****Coupling* ***P****rotein).*

de protones y aniones y situada en la membrana interna mitocondrial. La síntesis de ATP o fosforilación oxidativa, que lleva a cabo la ATPasa, tiene lugar gracias al gradiente de protones producido por el paso de los mismos hacia el espacio intermembrana por acción de la cadena respiratoria. La UCP_1 cortocircuita el recorrido de los protones haciéndolos pasar a la matriz mitocondrial, evitando la síntesis de ATP y disipando parte de la energía procedente de la oxidación de nutrientes en forma de calor **(Figura 4)**. Por tanto, la UCP_1 es la proteína que confiere al tejido adiposo marrón la capacidad de generar calor.

El principal tejido donde tiene lugar la termogénesis facultativa inducida por alimentos, frío, cafeína, tabaco etc., es el tejido adiposo marrón. A diferencia de lo que ocurre en los roedores, y especialmente en los hibernantes, en los que este tejido está claramente desarrollado y presenta unas localizaciones anatómicas muy concretas, en los humanos es sólo patente en los recién nacidos, en los que representa el 1-5% de su masa corporal, unos 100 g. Aparece en localizaciones estratégicas que dan calor a órganos vitales o a los vasos sanguíneos adyacentes: axilas, zona perirrenal, alrededor de la aorta. En los recién nacidos este proceso termogénico es muy importante para el mantenimiento de la temperatura corporal porque, al igual que en los animales de pequeño tamaño (roedores), la relación superficie/volumen corporal es muy elevada y por tanto las pérdidas de calor son de gran magnitud. Con el crecimiento esta relación va reduciéndose, con la consiguiente reducción de las pérdidas de calor. De ahí que el tejido adiposo marrón se haga innecesario desde un punto de vista termorregulador en los adultos de las especies de tamaño medio o grande, como es el caso del hombre y, por tanto, desaparezca. En

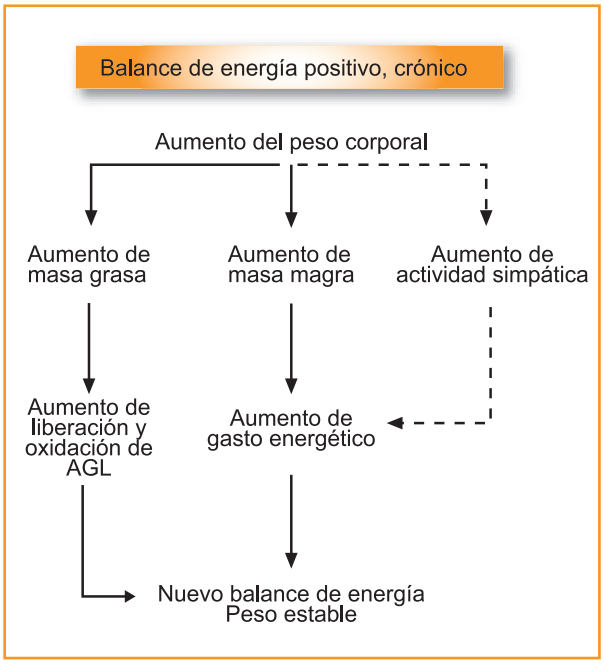


Figura 5. *Cambios energéticos y metabólicos asociados al incremento de peso corporal. Las líneas discontinuas hacen referencia a cambios que sólo se han podido demostrar en roedores.*

nuestro caso el principal tejido termogénico es el músculo esquelético.

La regulación de la termogénesis facultativa depende fundamentalmente de la regulación por parte del sistema nervioso simpático, que inerva de forma densa el tejido adiposo marrón. La noradrenalina liberada en los terminales simpáticos incrementa el mRNA de la UCP_1, la concentración de proteína y su actividad. Estos efectos están mediados por los receptores β-adrenérgicos, fundamentalmente β_3, y la elevación de las concentraciones de AMPc que se produce tras su activación. Parece que tanto la insulina como las hormonas tiroideas son necesarias para que la noradrenalina estimule el proceso termogénico.

En 1997 se descubrió la UCP_2, una proteína presente en una gran variedad de tejidos y cuya homología con la UCP_1 es del 57% en el caso de la rata y del 59% en su variante humana. Con posterioridad se publicó la existencia de un tercer miembro de la familia de estas proteínas, la UCP_3, localizada fundamentalmente en mitocondrias de músculo esquelético y del tejido adiposo marrón. En roedores la UCP_3 y la UCP_1 son homólogas en un 54%, mientras que en el caso de las variantes humanas la homología es del 57%. El importante grado de similitud entre la UCP_1 y sus homólogas ha conducido a la realización de un gran número de estudios para demostrar la capacidad desacoplante de la UCP_2 y la UCP_3. Los resultados obtenidos, tanto en contra como a favor, están sujetos a controversia, así como la función de estas proteínas.

Los cambios en la termogénesis facultativa, que permiten disipar parte de la energía contenida en los alimentos en forma de calor, en lugar de acumularla en forma de grasa en los depósitos adiposos, son importantes en la eficacia energética, es decir, en la medida en que la energía contenida en los alimentos es utilizada por el organismo.

Cuando debido a un exceso de ingesta se produce un incremento de peso corporal, el gasto energético total va incrementándose hasta alcanzar un valor equivalente al de la ingesta de energía. Este incremento es un mecanismo homeostático que contribuye a limitar el aumento de peso. Por el contrario, cuando se produce una pérdida de peso corporal, el gasto energético del individuo disminuye debido fundamentalmente a la disminución de las concentraciones plasmáticas de T_3 y del tono simpático. En definitiva, parece claro que la regulación del gasto energético contribuye a minimizar el depósito de energía en forma de grasa durante los periodos de sobre-alimentación o la movilización de energía desde los depósitos corporales de grasa en los periodos de déficit de ingesta **(Figura 5)**.

3.2. Alteraciones genéticas relacionadas

3.2.1. Estudios en modelos animales

Algunos de los péptidos implicados en la regulación de la ingesta de alimento también están relacionados con el gasto energético; tal es el caso de la leptina, el NPY y la α-MSH. La leptina y la α-MSH aumentan la actividad simpática en el tejido adiposo marrón de la rata, incrementando así la termogénesis y disminuyendo la eficacia energética; de hecho es posible que la estimulación de la liberación de α-MSH que produce la leptina esté involucrada en los efectos de esta hormona sobre el gasto energético. El NPY actúa de forma

contraria, es decir, disminuye la actividad simpática en el tejido adiposo marrón de la rata, disminuyendo así la termogénesis y aumentado la eficacia energética. Es muy probable que los efectos de la leptina también estén mediados por la disminución de la liberación de NPY que produce.

Teniendo en cuenta estos aspectos, es perfectamente comprensible que en los modelos animales de obesidad anteriormente citados (rata Zucker *fa*/*fa*, ratón obeso *ob*/*ob* y ratón diabético *db*/*db*), en los que las alteraciones en la producción de péptidos reguladores del apetito (aumento de NPY y reducción de α-MSH fundamentalmente) conducen a un exceso de ingesta energética, también se produzca una disminución del gasto energético. Esta situación, junto con el exceso de ingesta, justifica la aparición de obesidad. Algo similar ocurre en los ratones que no disponen de receptores MC4 y en los que sobreexpresan la proteína, el antagonista de los receptores MC4 (ratones A^{vy}/a).

En lo que respecta a las alteraciones genéticas en la expresión de proteínas desacoplantes, los resultados obtenidos en animales de experimentación son bastante concluyentes. Se ha observado que ratones transgénicos que no expresan UCP_1 (*knockout* UCP_1) desarrollan obesidad a una edad muy temprana, incluso sin que se produzca hiperfagia. En estos ratones se observa un aumento de UCP_2 en tejido adiposo marrón. Si bien este incremento constituye un mecanismo compensatorio, el posible aumento del gasto energético asociado no es totalmente eficaz en la prevención de la obesidad. Por otra parte, al alimentar ratones de dos razas diferentes con una dieta hipergrasa, una de las razas (B6) desarrolla obesidad mientras que la otra (A/J) mantiene un peso corporal estable. Los animales que no desarrollan obesidad presentan niveles superiores de mRNA de UCP_2 en tejido adiposo blanco con respecto a los que sí la desarrollan. En un estudio muy similar se ha observado que, al alimentar ratones de la misma raza con una dieta hipergrasa, algunos desarrollan obesidad, pero otros no. Estos últimos experimentan un notorio incremento de la expresión de UCP_3 tras la alimentación hiperlipídica, mientras que los obesos no. En ratones que sobreexpresan UCP_3 se observa un menor peso corporal pero, al contrario de lo que cabría esperar, en ratones *knockout* UCP_3 no se aprecia un fenotipo de obesidad, quizás porque se ponen en marcha otros mecanismos compensatorios. Todos estos resultados parecen indicar que una reducida expresión de UCP o una ausencia de incremento en su expresión ante determinadas situaciones fisiológicas o farmacológicas pueden estar involucradas en la etiología de la obesidad.

Por otra parte, la noradrenalina incrementa el mRNA de la UCP_1, la concentración de proteína y su actividad tras su unión a receptores β_3 adrenérgicos. Así, ratones *knockout* para este receptor presentan un incremento del peso corporal y del tamaño de los depósitos adiposos.

3.2.2. Estudios en humanos

Cuando se analizan las posibles causas de obesidad parece lógico pensar que una de ellas pueda ser la existencia de una tasa metabólica basal baja (expresada en relación con la masa magra) en los individuos obesos. Sin embargo, en la actualidad no hay datos concluyentes que permitan afirmar tal tesis con rotundidad.

Dado que el sistema nervioso simpático estimula las respuestas termogénicas al frío y a algunos componentes de la dieta, también parece razonable pensar que un déficit en el tono simpático pueda conducir a un gasto energético reducido y, por tanto, estar relacionado con el desarrollo de obesidad. Un problema que surge a la hora de extraer conclusiones de los estudios realizados en relación con este tema es que los resultados varían mucho dependiendo de la metodología que se haya utilizado para valorar el funcionamiento del sistema nervioso simpático. Por ello, es difícil saber si un bajo tono simpático, condicionado genéticamente, puede ser causa de obesidad o, al menos, responsable de una mayor propensión a la acumulación de grasa corporal. Pese a todo lo anteriormente expuesto, existen numerosas evidencias en la bibliografía que parecen indicar que en los obesos existe una respuesta disminuida del sistema nervioso simpático a estímulos como la ingesta de alimento (termogénesis inducida por la dieta), lo cual podría tener relación con la resistencia periférica a la insulina, o la exposición al frío (termogénesis inducida por frío).

En relación con la posible existencia de alteraciones genéticas en la expresión de proteínas desacoplantes, existen estudios que evidencian

una correlación negativa entre la UCP_3 en músculo esquelético y el índice de masa corporal y una correlación positiva entre la UCP_2 y la UCP_3 en músculo esquelético y el metabolismo de reposo. Dado que un bajo metabolismo de reposo es un factor que predispone al desarrollo de obesidad, estos resultados sugieren que la presencia de bajos niveles de UCP_3 en músculo esquelético pueden favorecer el incremento de peso corporal.

Asimismo, se ha observado que algunos obesos presentan niveles menores de mRNA de UCP_2 en tejido adiposo blanco intraperitoneal que individuos no obesos. En estos estudios los niveles de mRNA de UCP_2 de los individuos obesos no se vieron incrementados con la pérdida ponderal conseguida tras 5 meses de dieta hipocalórica, lo que sugiere que esta alteración no era una consecuencia de la obesidad que padecían sino que, por el contrario, podría estar en el origen de la misma. También se han encontrado correlaciones positivas entre el porcentaje de grasa corporal y la existencia de polimorfismos en la UCP_3 muscular.

Todos estos datos sugieren que las proteínas desacoplantes pueden desempeñar un papel importante en el balance energético. La ausencia de estas proteínas, o la expresión de formas poco activas de las mismas podría conducir a un gasto energético reducido y por tanto contribuir al desarrollo de la obesidad. Los estudios destinados a conocer la proporción de obesos con defecto termogénico muestran que alrededor de un tercio de ellos poseen termogénesis reducida, aspecto que es excepcional en los individuos delgados. Las UCP podrían, por tanto, constituir un posible nuevo objetivo en el tratamiento de esta patología. No obstante, los resultados recopilados de la bibliografía no resultan tan concluyentes como los anteriormente expuestos en el caso de los animales de experimentación y, por tanto, se necesitan más datos acerca del comportamiento de las UCP y de la regulación de sus genes en el ser humano.

Como ya se ha expuesto, las mutaciones genéticas en el receptor MC4 producen una disminución del gasto energético en roedores. En el caso de los humanos, no existen evidencias claras de dicha disminución. Por otra parte, polimorfismos que afectan a los receptores adrenérgicos β_2 y β_3 también han sido asociados con alteraciones de la eficacia energética.

3.3. Influencia del estilo de vida en el gasto energético

Estudios llevados a cabo en animales de experimentación han puesto de manifiesto que determinados componentes de la dieta pueden modificar la expresión y la actividad de las UCP y, por tanto, el gasto energético. Así, se ha observado que el ácido retinoico incrementa la actividad UCP_1 en ratones y que el tipo de grasa de la dieta (monoinsaturada, poliinsaturada o saturada) puede influir en la expresión de proteínas desacoplantes en diferentes tejidos. No obstante, hay que ser cautos a la hora de extrapolar estos datos al caso de los humanos ya que las condiciones experimentales de este tipo de estudios en animales distan bastante de la realidad humana.

Los datos existentes en la bibliografía parecen indicar que no existe una relación clara entre la actividad física y el gasto energético por termogénesis facultativa. Así, en algunos estudios llevados a cabo en roedores se ha podido observar un aumento de mRNA de UCP_3 en músculo esquelético tras 3 horas de ejercicio físico, pero estas cifras retornan a valores basales al cabo de 24 horas. En el caso de los humanos varios trabajos han puesto de manifiesto que el entrenamiento (durante 6 semanas) no produce cambios en los mRNA de UCP_2 y UCP_3.

Algo que resulta mucho más evidente es la implicación del escaso gasto por actividad física, debido al estilo de vida sedentario característico de sociedades desarrolladas, en la etiología de la obesidad. Efectivamente, al margen de condicionantes de tipo genético, las dos principales causas de las elevadas tasas de sobrepeso y obesidad en nuestros días parecen ser el exceso de ingesta energética y el déficit de actividad física.

Esta falta de actividad física afecta a todos los grupos poblacionales, independientemente de la edad. Algunas estimaciones relacionadas con la evolución de las actividades sociales y el empleo de equipos electrodomésticos entre 1950 y 1990 señalan que los hombres y las mujeres realizan ahora mucho menos ejercicio que en la generación pasada. Se gasta mucho menos energía en el trabajo debido al desarrollo de la tecnología. También nuestra vida cotidiana se ve afectada por este fenómeno con el empleo de ascensores, escaleras mecánicas, electrodomésticos, transportes motorizados, mejor acondicionamiento y climatización de las viviendas etc. Así,

comprar en el mercado requiere 2.500 kcal/semana y comprar en el hipermercado con carrito menos de 100 kcal/semana; hacer fuego para cocinar exige 11.300 kcal/semana y encender el fuego eléctrico solamente unas pocas kilocalorías; lavar la ropa a mano exige 1.500 kcal/día y lavar con una lavadora automática exige solamente 270 kcal/2 h. En el caso de los niños, también ha contribuido a este hecho la menor seguridad vial y ciudadana, que ha hecho que disminuya de forma considerable el porcentaje de niños que se desplazan a pie o en bicicleta hasta el colegio y que juegan solos en la calle.

Además, el desarrollo de las nuevas tecnologías hace que cada vez se recurra con más frecuencia a actividades de bajo coste energético en el tiempo libre (videoconsolas, videojuegos, Internet, etc.). Algunos datos obtenidos en el Reino Unido sugieren que por término medio se dedican 26 horas a la semana a ver la televisión, mientras que en la década de los 60 la media se situaba en 13 horas. En España se estima que por término medio cada individuo ve la televisión más de 3 horas al día. En este sentido, numerosos estudios han evidenciado la correlación positiva entre el tiempo dedicado a ver la televisión y la prevalencia de obesidad. Por ejemplo, jugar requiere aproximadamente 225 kcal/h y ver la televisión tan sólo 80 kcal/h. Cabría, además, señalar la asociación que se da entre ver la tele y otros hábitos de vida que no son adecuados para mantener un peso corporal estable. Así, es frecuente, sobre todo en algunas sociedades como la norteamericana, que mientras se está viendo la televisión se ingieran grandes cantidades de energía en forma de bebidas, helados, palomitas, galletitas, etc.

4. Acumulación de grasa en el tejido adiposo

Una de las principales funciones del tejido adiposo es el almacenamiento de energía en forma de triglicéridos, que se produce en momentos y situaciones de exceso. Estos triglicéridos almacenados se degradan hasta ácidos grasos libres cuando los diferentes órganos y tejidos de la economía corporal necesitan energía. La regulación del almacenamiento de grasa se produce a través de diversos procesos metabólicos que operan en los propios depósitos grasos:

a) Proliferación de los preadipocitos y diferenciación en adipocitos (adipogénesis).

b) Lipogénesis (síntesis de ácidos grasos).

c) Captación de ácidos grasos a partir de las lipoproteínas circulantes.

d) Lipólisis o hidrólisis de los triglicéridos almacenados **(Figura 6)**.

La regulación de estos procesos depende de la interacción entre genes y factores ambientales y, en particular, entre genes y nutrientes.

4.1. Adipogénesis

4.1.1. Bases fisiológicas

La adipogénesis consiste en la diferenciación de adipocitos a partir de preadipocitos, lo cual genera cambios en la morfología, la sensibilidad a hormonas y la expresión de genes de estas células. El estudio de la red de vasos sanguíneos que irrigan el tejido adiposo revela que la angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de los ya existentes) en ocasiones precede a la adipogénesis. Así pues, la angiogénesis y la adipogénesis están espacial y temporalmente acopladas durante el desarrollo embrionario. En la especie humana, la formación del tejido adiposo comienza antes del nacimiento y es en el periodo posnatal temprano cuando tiene lugar su expansión, por aumento del número de células grasas y del tamaño de las mismas. En etapas posteriores el tejido adiposo sigue conteniendo células precursoras (preadipocitos) que mantienen la capacidad de proliferar y de diferenciarse en adipocitos maduros. Los adipocitos producen mitógenos específicos que promueven la diferenciación de las células endoteliales y, a su vez, estas células endoteliales producen mitógenos que estimulan la proliferación de los adipocitos y promueven su diferenciación. Por tanto, la interacción entre las células endoteliales y los adipocitos promueve la expansión del tejido adiposo.

Es interesante señalar que la red vascular del tejido adiposo presenta la capacidad de desarrollarse durante los periodos de balance de energía positivo y de reducirse durante los periodos en los que se produce una pérdida de peso corporal. En la adquisición de las diversas funciones que se produce durante el proceso de adipogénesis están involucrados cambios positivos y negativos de la expresión

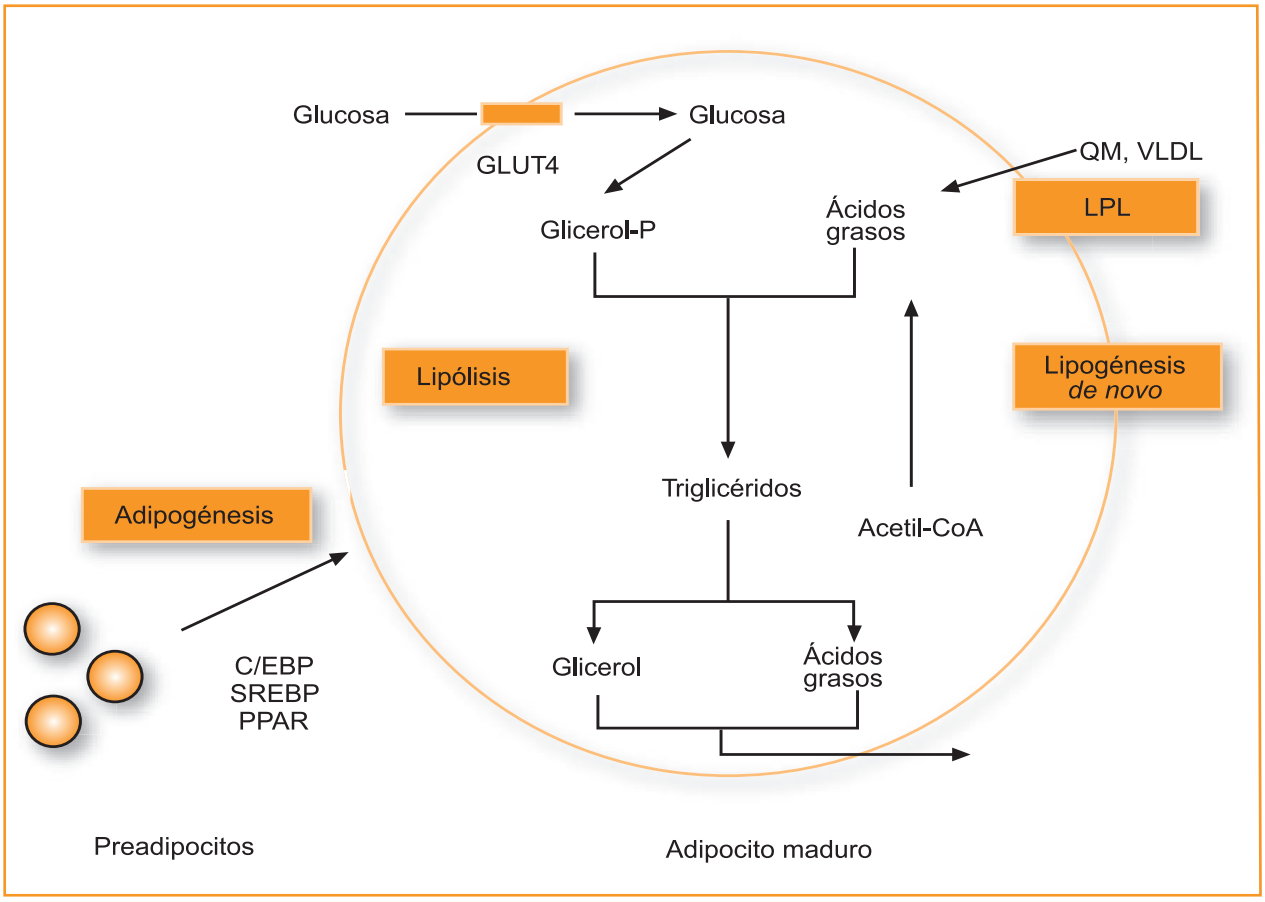


Figura 6. *Procesos metabólicos que operan en los propios depósitos grasos y que regulan la acumulación de grasa corporal. C/EBP, SREBP y PPAR son factores de transcripción; GLUT4: transportador de glucosa; LPL: lipoproteína lipasa; QM: quilomicrones; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.*

de un elevado número de proteínas. Algunos de estos cambios se producen en la expresión de los genes que codifican para estas proteínas, mientras que otros cambios son transcripcionales.

Para que el proceso de adipogénesis se produzca es necesaria la acción secuenciada y coordinada de factores de transcripción que incluyen la familia de los C/EBP (***C****CAAT*/***E****nhancer* ***B****inding* ***P****rotein*), los PPAR (***P****eroxisome* ***P****roliferator-****A****ctivated* ***R****eceptor*) y ADD1/SREBP1 (***A****dipocyte-****D****ifferentiation and* ***D****etermination Factor* ***1***). Cuando se inicia el proceso en repuesta a señales adipogénicas el primer paso de la cascada es la inducción transitoria de la expresión de C/EBP-β y δ, seguida de un incremento de la expresión de PPAR-γ, que estimula la expresión de C/EBP-α. PPAR-γ y C/EBP-α estimulan la expresión de todos los marcadores adipocitarios **(Figura 7)**. La actividad de ADD1/SREBP1 y de PPAR-γ es fundamental a la hora de determinar la capacidad lipogénica de los adipocitos maduros.

Gran parte del conocimiento que existe actualmente acerca de los diferentes procesos que ocurren durante la adipogénesis procede de los estudios llevados a cabo en líneas celulares en cultivo (3T3-L1, 3T3-F442A) que se diferencian a partir de células similares a fibroblastos para originar adipocitos maduros similares a los encontrados en el tejido adiposo. Aunque en estos modelos celulares el proceso de diferenciación es bastante similar al que se produce *in vivo*, existen algunas diferencias que es preciso tener en cuenta. Por ejemplo, el nivel de expresión de algunos genes es distinto en los preadipocitos *in vivo* y en los preadipocitos en cultivo. Además, es evidente que la complejidad de estímulos a la que están sometidos los preadipocitos *in vivo* es mucho mayor que la de

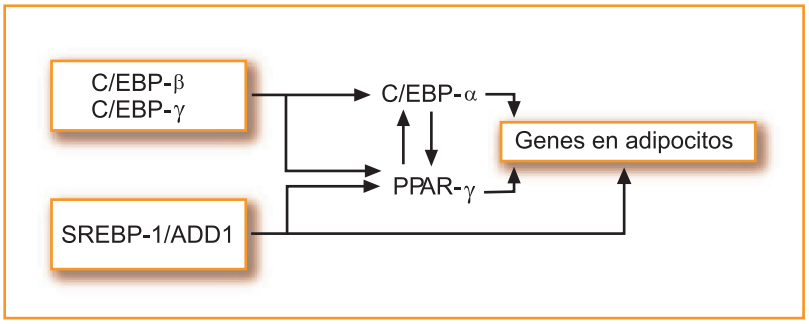


Figura 7. *Factores de transcripción involucrados en la adipogénesis.*

los preadipocitos en cultivo. Todo esto hace que sea necesario ser muy cautos a la hora de extraer conclusiones de los estudios realizados con líneas celulares en cultivo.

Los adipocitos maduros sintetizan y liberan una gran cantidad de sustancias, algunas de las cuales están relacionadas con el proceso de adipogénesis. Así, el factor de necrosis tumoral (TNF-α) inhibe la diferenciación de los preadipocitos porque disminuye la expresión de los dos principales reguladores de dicho proceso, el C/EBP-α y el PPAR-γ.

4.1.2. Alteraciones genéticas relacionadas

Estudios llevados a cabo en animales de experimentación genéticamente modificados demuestran que la ausencia de los factores de transcripción anteriormente mencionados (ratones *knockout* C/EBP y PPAR-γ) hace que éstos no sean capaces de desarrollar con normalidad el tejido adiposo.

En humanos no existen datos que indiquen que los individuos obesos presentan una mayor expresión de PPAR-γ. Sin embargo, se han descrito algunas mutaciones en el gen que codifica para este PPAR. Una de ellas consiste en una sustitución de una guanina por una timina en el exón 2, la cual origina una sustitución de prolina por glutamina en la posición 115. En el estudio en el que se descubrió esta mutación, 4 de los 121 individuos obesos analizados la presentaban, pero ninguno de los 237 individuos no obesos. En otros estudios no se ha detectado este tipo de mutación. La mutación más frecuente en el PPAR-γ es la sustitución de prolina por alanina en el codón 12, que se presenta en el 0,12% de la población caucásica y en el 0,01% de la población china. Los resultados existentes en la bibliografía en relación con esta mutación son contradictorios. Así, mientras que unos estudios asocian la mutación un mayor índice de masa corporal, en otros no se encuentra esta asociación. Es posible que la trascendencia de la existencia de esta mutación dependa de si el individuo es obeso o no, o incluso de la relación ácidos grasos poliinsaturados/ácidos grasos saturados de la dieta.

4.1.3. Influencia de factores dietéticos

Ensayos realizados en cultivos celulares y en animales de experimentación han puesto de relieve la importancia de ciertos nutrientes, tales como el ácido retinoico y los distintos tipos de ácidos grasos en la estimulación de la diferenciación de los adipocitos. El ácido retinoico añadido al medio de cultivo actúa como un potente inhibidor de la diferenciación de los adipocitos, disminuyendo la acumulación de lípidos en su interior y la expresión de marcadores celulares de diferenciación adipocitaria. Los ácidos grasos poliinsaturados incrementan en menor medida que los ácidos grasos saturados el número de adipocitos *in vivo*, pero, sin embargo, son más eficaces estimulando la diferenciación de los preadipocitos *in vitro*.

Es importante destacar la relevancia de los factores nutricionales en las etapas tempranas del desarrollo. En estudios realizados en ratas, se ha observado que la sobrealimentación con dietas de cafetería produce un incremento del peso corporal que puede ser reversible en la edad adulta, pero que no lo es cuando la sobrealimentación se produce durante el desarrollo. En el caso de los humanos, la situación es bastante similar. Cuando en la edad adulta, debido a una pauta de alimentación incorrecta (exceso de ingesta energética) o un déficit de actividad física o a ambas causas a la vez, se produce un balance de energía positivo, el incremento de la masa grasa corporal se produce fundamentalmente a expensas de un aumento del tamaño de los adipocitos; sin embargo, cuando estas circunstancias se dan en la infancia e incluso en la adolescencia, además del aumento del tamaño celular se produce un importante fenómeno

de proliferación adipocitaria, es decir, aumento del número de adipocitos, lo cual supone un mal pronóstico para el futuro tratamiento de ese exceso de grasa corporal.

4.2. Lipogénesis y lipólisis

4.2.1. Bases fisiológicas

La lipogénesis es un proceso por el que se sintetizan ácidos grasos *de novo*, que posteriormente serán reesterificados junto con moléculas de glicerol-fosfato para formar triglicéridos. La síntesis de ácidos grasos requiere una fuente citosólica de acetil-CoA y NADPH, que actúan como factores limitantes. El acetil-CoA procede fundamentalmente de acetato y de glucosa y el poder reductor (NADPH) de las rutas metabólicas catalizadas por la enzima málica y la glucosa-6P-deshidrogenasa (*ver Capítulos 1.9 y 1.12*). La acetil-CoA carboxilasa (enzima limitante) y la ácido graso sintasa son dos enzimas clave en la síntesis de ácidos grasos. Las cuatro enzimas lipogénicas mencionadas son susceptibles de regulación nutricional y hormonal. En los periodos de ayuno, existen elevadas concentraciones de ácidos grasos circulantes, merced a una lipólisis aumentada, que inhiben la biosíntesis lipídica. Esta situación metabólica está mediada por las modificaciones que se producen en las concentraciones plasmáticas de insulina, glucagón y T_3, que responden al estado alimentario. Así, mientras que la insulina y la T_3 estimulan la lipogénesis, el glucagón la inhibe.

Los ácidos grasos que van a formar parte de la molécula de triglicérido también pueden provenir de la hidrólisis que lleva a cabo la lipoproteína lipasa (LPL) en los triglicéridos que viajan en sangre en forma de lipoproteínas (quilomicrones y VLDL) (*ver Capítulo 1.11*). La actividad de esta enzima, que se sitúa en el endotelio capilar de las células, varía en función de la necesidad energética de los tejidos en los que se expresa. En situaciones de alimentación normal, la actividad LPL del tejido adiposo es alta, mientras que durante el ayuno es menor. El entrenamiento físico determina una mayor actividad LPL en músculo esquelético con el claro objetivo de mejorar el aporte de sustrato para la oxidación y la obtención de energía para la actividad física. Las principales hormonas que regulan la actividad LPL son la insulina y los glucocorticoides, que actúan aumentándola, y el principal factor de transcripción que induce la expresión de LPL es el PPAR-γ.

La lipólisis permite la movilización de los triglicéridos desde el tejido adiposo, para su posterior utilización por parte de los diversos órganos y tejidos de la economía corporal. Las catecolaminas son las hormonas que tienen un efecto lipolítico más pronunciado en humanos, y su mecanismo de acción consiste en la unión a receptores adrenérgicos de membrana acoplados a proteínas G. Cuando las catecolaminas se unen a receptores adrenérgicos β presentes en la superficie externa de la membrana plasmática de los adipocitos, se forma un complejo binario agonista-receptor que, a su vez, se une a una proteína fijadora de nucleótidos de guanina (Gs) para formar un nuevo complejo ternario. Este complejo se asocia al GTP, produciendo la pérdida de afinidad del complejo por el binomio agonista-receptor, que es liberado, y promoviendo la unión de esta proteína fijadora de nucleótidos con la subunidad catalítica de la adenilato-ciclasa. Esta enzima activada forma AMPc, un segundo mensajero intracelular que activa una proteína kinasa dependiente de AMPc, la cual activa por fosforilación la lipasa sensible a hormonas (LSH), que es la que hidroliza los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo. Por el contrario, cuando las catecolaminas se unen a receptores adrenérgicos (también presentes en la superficie externa de la membrana plasmática de los adipocitos, el complejo se une a la proteína Gi, lo que impide la activación de la adenilato-ciclasa y la elevación de las concentraciones de AMPc; en estas condiciones, la LSH se mantiene desfosforilada y por tanto inactiva al no activarse la proteína kinasa y, en consecuencia, se frena la lipólisis **(Figura 8)**.

La síntesis y degradación de triglicéridos son dos procesos metabólicos que se dan de forma constante en el organismo. El que se produzca acumulación o pérdida de grasa en el tejido adiposo depende del balance entre ellos. El control de todo este sistema se puede producir a tres niveles:

a) Control agudo homeostático.
b) Control crónico homeorrético.
c) Control autónomo del propio tejido.

El control homeostático corre a cargo de hormonas como la insulina y del sistema nervioso autónomo a través de las catecolaminas. La insulina estimula

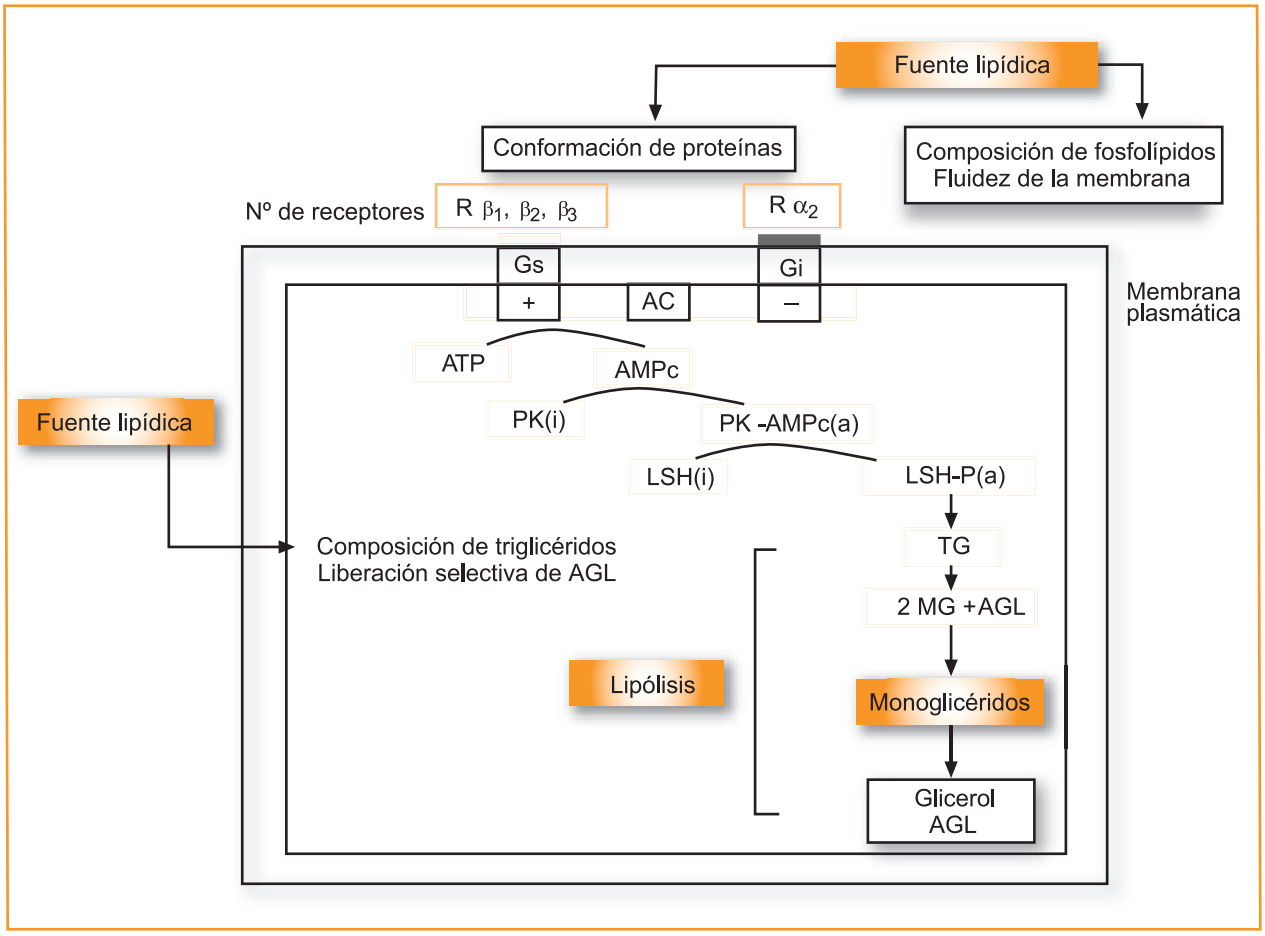


Figura 8. *Esquema de la cascada lipolítica e influencia de la composición de la dieta en la movilización de triglicéridos. R: receptores; AC: adenilato ciclasa; PK: proteína kinasa; LSH: lipasa sensible a hormonas; i: inactiva; a: activa; TG: triglicéridos; MG: monoglicéridos; AGL: ácidos grasos libres.*

la lipogénesis y la actividad de la lipoproteína lipasa e inhibe la lipólisis. Las catecolaminas actúan fundamentalmente sobre la lipólisis, activándola o inhibiéndola, dependiendo de sus concentraciones, y la adenosina y la prostaglandina E actúan inhibiendo la lipólisis. El control homeorrético crónico tiene como misión la adaptación a las necesidades propias de situaciones fisiológicas especiales, tales como la lactancia, en la que la lipogénesis disminuye y la sensibilidad a estímulos lipolíticos aumenta. Los responsables del llamado control autónomo, a diferencia de lo que ocurre en los dos casos anteriores, no son las hormonas sino sustancias producidas por el propio tejido adiposo; de ahí, el nombre de autónomo. De entre estas sustancias, cabe señalar el factor de necrosis tumoral (TNF-α) que estimula la lipólisis e inhibe la lipogénesis y la actividad de la LPL.

4.2.2. Alteraciones genéticas relacionadas

Dado que el PPAR-γ regula la expresión de la LPL, cabe suponer que alteraciones en la expresión de este factor de transcripción puedan originar cambios en la susceptibilidad a la acumulación de grasa en el tejido adiposo. En este sentido cabe señalar que en ratones carentes de este factor de transcripción, el incremento de la masa adiposa que se produce cuando son alimentados con una dieta hipergrasa es menor que el observado en ratones normales. Al realizar estudios destinados a determinar si en modelos animales de obesidad la expresión de PPAR-γ es mayor que en animales normales, los resultados encontrados en la bibliografía son un tanto contradictorios. Por ejemplo, en

estudios realizados en ratas Zucker obesas, unos autores no han encontrado diferencias en la expresión de PPAR-γ al compararlas con ratas Zucker magras, mientras que otros han observado el doble de expresión en las ratas obesas.

Por lo que respecta a la síntesis de triglicéridos, cabe pensar que defectos en esta ruta metabólica se asocien a un fenotipo delgado. Efectivamente, los ratones que presentan una deficiencia homozigótica en la enzima acetil-CoA: diacilglicerol transferasa (DGAT), una enzima microsomal que cataliza el último paso en la biosíntesis de triglicéridos, tienen una menor masa de tejido adiposo y son resistentes al desarrollo de obesidad. En el caso de la rata Zucker obesa (*fa/fa*) se produce una gran acumulación de grasa corporal debido en parte a su marcada hiperfagia. Pero ésta no es la única razón de su obesidad; la LPL y los enzimas lipogénicos tienen una actividad incrementada en tejido adiposo blanco, lo cual contribuye a su gran depósito graso. Dado que el NPY estimula la actividad lipogénica y la de la LPL, favoreciendo la canalización de los nutrientes hacia el almacenamiento y no hacia su oxidación, es posible que las elevadas concentraciones de NPY encontradas en este modelo de obesidad estén involucradas con la elevada lipogénesis y captación de lípidos.

En relación con la lipólisis, cabe señalar que existen modelos animales de obesidad genética como la rata Zucker *fa/fa* que presentan un déficit lipolítico ante estímulos adrenérgicos. En la bibliografía se encuentran diversas razones que pueden estar involucradas en este déficit:

a) Número reducido de receptores adrenérgicos β_3.

b) Alteraciones en la adenilato-ciclasa y por tanto en la producción de AMPc.

c) Hipotiroidismo.

En el caso de los humanos, la capacidad lipolítica tiene un importante componente genético hereditario. En algunos estudios se ha descrito la existencia en individuos obesos de variantes poligénicas de los genes que codifican para la LSH, siendo la más habitual la que consiste en una forma más corta de dicho gen, carente del codón 6, y para los receptores β-adrenérgicos, tales como Arg16Gly y Gln27Glu en el receptor β_2, y Trp64Arg en el receptor β_3. Todas estas variantes están relacionadas con un mayor depósito adiposo, ya que ni los receptores alterados ni la lipasa ejercen adecuadamente su función y, por tanto, no se puede producir una adecuada movilización lipídica.

4.2.3. Importancia del estilo de vida

El tipo de alimentación, y más concretamente la composición en ácidos grasos de la dieta, puede influir en la respuesta lipolítica del tejido adiposo. Son varias las razones que justifican esta influencia de la dieta:

a) Cambios en la conformación de las proteínas de membrana.

b) Cambios en la eficacia de los sistemas de transducción.

c) Cambios en la composición de triglicéridos.

El perfil lipídico de la dieta influye de manera notoria en la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana plasmática de los adipocitos. Esta composición condiciona las interacciones que se establecen entre dichos lípidos y las proteínas situadas en la membrana, tales como los receptores adrenérgicos y las proteínas G (*ver Capítulo 1.5*). Dependiendo del tipo de interacción que se establezca, las mencionadas proteínas presentan una determinada conformación, de la cual dependen la afinidad por sus agonistas (catecolaminas) en el caso de los receptores, y las interacciones entre los receptores y las proteínas G. La composición lipídica de las membranas también determina sus propiedades físico-químicas, entre las que destaca su fluidez. Los cambios en dicha fluidez influyen en la movilidad de los receptores en el seno de la membrana desde la parte más externa de la misma hasta la parte más interna en contacto con el citoplasma, que es donde se produce la unión a la adenilato-ciclasa. Se ha descrito que la fluidez de la membrana es mayor cuanto mayor es su contenido en ácidos grasos poliinsaturados. De este modo, estos ácidos grasos facilitarían el desplazamiento de los receptores adrenérgicos en el seno de la membrana.

Por otra parte, se ha demostrado que la composición en ácidos grasos de la dieta también influye en el perfil de los triglicéridos acumulados. La liberación de los ácidos grasos que forman parte de los triglicéridos almacenados en los adipocitos es selectiva: para una determinada longitud de cadena, la facilidad de liberación aumenta con el grado de insaturación, mientras que, para un mismo grado de insaturación,

la liberación disminuye conforme aumenta la longitud de la cadena. La mayoría de los estudios relativos a esta selectividad en la liberación han sido realizados *in vitro*; por ello, todavía es necesario comprobar si estos fenómenos se reproducen *in vivo*.

La composición de la dieta también tiene gran importancia en la regulación de actividad de las enzimas lipogénicas; concretamente, los ácidos grasos instaurados disminuyen la lipogénesis tanto en hígado como en tejido adiposo, ya que disminuyen la expresión de los genes que codifican para las enzimas lipogénicas (*ver Capítulo 1.31*). Otros factores dietéticos que también afectan a este proceso son el calcio y el índice glucémico de los alimentos. Por tanto, se puede afirmar que el tipo de alimentación puede influir de manera decisiva en la acumulación de grasa corporal al afectar a varios de los procesos metabólicos involucrados en el almacenamiento de triglicéridos.

Además de la alimentación, otro de los aspectos importantes del estudio de vida de la población es la actividad física. Diversos estudios llevados a cabo en humanos han puesto de manifiesto que la práctica de ejercicio físico incrementa la capacidad lipolítica del tejido adiposo. No está del todo claro cuál es el mecanismo que justifica este efecto. Así, algunos autores proponen que el ejercicio físico incrementa la expresión de la LSH. Sin embargo, en otros estudios se afirma que este efecto se debe a una reducción del número de receptores adrenérgicos α_2 antilipolíticos y a un aumento del número y/o de la afinidad de los receptores β-adrenérgicos que son los que estimulan la lipólisis, sin cambios en otros puntos de la cascada lipolítica.

4.3. Distribución de macronutrientes

4.3.1. Bases fisiológicas

El reparto de macronutrientes entre los diferentes tejidos de la economía corporal es un importante determinante del crecimiento del tejido adiposo. Alteraciones en la distribución de dichos macronutrientes pueden conducir a un fenotipo obeso; éste es el caso que se plantea cuando los nutrientes se dirigen preferentemente al tejido adiposo para el almacenamiento en lugar de al músculo para su oxidación **(Figura 9)**.

El mantenimiento del peso corporal requiere que se produzca no sólo un balance neutro entre la energía ingerida a través de la dieta y la energía consumida por el organismo, sino también un balance de nutrientes neutro. Esto significa que la composición media de los sustratos energéticos que se oxidan se ajusta a la distribución de macronutrientes en la dieta. Los mecanismos por los cuales el organismo consigue la regulación homeostática de la utilización de sustratos metabólicos y controla la adiposidad continúan sin estar totalmente establecidos. Sin embargo, la interrelación entre el metabolismo de las grasas y los hidratos de carbono, así como la capacidad de ajustar la oxidación de glúcidos y proteínas a sus respectivas ingestas están bien definidas. La magnitud de los cambios en la oxidación de sustratos en respuesta a alteraciones en la ingesta probablemente pueda predecir los efectos de la composición de la dieta en el peso y la composición corporal a largo plazo.

Los hidratos de carbono se almacenan en el organismo en forma de glucógeno en hígado y músculo esquelético. Un dato importante es que la capacidad para almacenar glucógeno es muy limitada. El depósito hepático puede llegar a suponer entre 100 y 120 g. La capacidad de almacenamiento del músculo es menor que la del hígado pero, dado que puede representar del orden del 20 al 30% del peso corporal de un individuo, la cantidad de glucógeno muscular puede ascender a 200-500 g, dependiendo del tamaño corporal del individuo y de la cantidad de hidratos de carbono consumida. Esta cantidad oscila a lo largo del día en función de la ingesta de alimento y de la realización de ejercicio físico. Por ello, cuando se ingiere un exceso de hidratos de carbono no resulta posible almacenarlos en su totalidad. Una posible vía de utilización sería la transformación de los hidratos de carbono excedentarios en lípidos, para su posterior almacenamiento. El criterio general es que el ser humano posee el equipamiento enzimático necesario para realizar esta transformación en tejido adiposo, pero esta ruta metabólica no suele activarse normalmente, quizás por su elevado coste energético (25%). Se estima que la transformación de hidratos de carbono en grasa no excede los 12 g/día.

Los depósitos de grasa del organismo, a diferencia de los de glucógeno, son de gran magnitud (varios kg) y, además, poseen una gran capacidad de expansión, generalmente por un proceso de

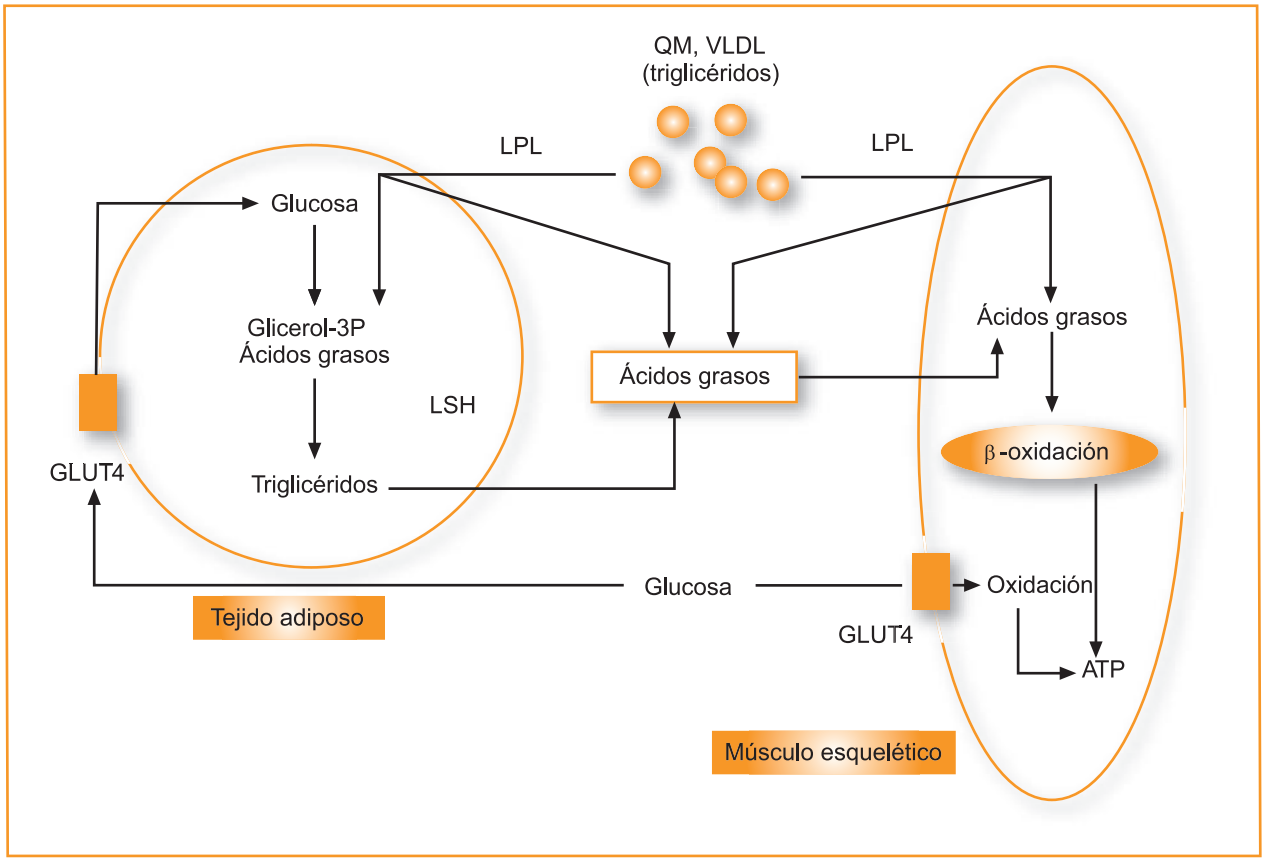


Figura 9. *Integración de los procesos metabólicos relacionados con el reparto de los macronutrientes entre tejido adiposo y músculo esquelético; QM: quilomicrones; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad; GLUT4: transportador de glucosa; LPL: lipoproteína lipasa; LSH: lipasa sensible a hormonas.*

hipertrofia, aunque en algunos casos también por un proceso de hiperplasia. Por ello, y a diferencia de lo que ocurre con el balance de hidratos de carbono, tras una excesiva ingesta de lípidos no se estimula su oxidación, sino que los lípidos se almacenan en los depósitos adiposos corporales en forma de triglicéridos. El funcionamiento de la ruta metabólica que permite esta transformación supone un coste energético de tan sólo el 3% de la ingesta energética. No existe, por tanto, una buena regulación a corto plazo del metabolismo oxidativo de la grasa que permita corregir los excesos en su ingesta para evitar el incremento ponderal **(Tabla 4)**.

Por todo lo anteriormente expuesto, una comida rica en hidratos de carbono potencia la oxidación de este nutriente como sustrato energético. Así, tras la ingesta se estimula la liberación de insulina, la cual promueve la captación de glucosa en los órganos y tejidos glucosa-dependientes e inhibe la liberación hepática de glucosa. La insulina estimula el transporte de glucosa en el músculo esquelético y la síntesis de glucógeno en hígado y músculo esquelético. Además, esta hormona inhibe la liberación de ácidos grasos desde el tejido adiposo porque inhibe la lipólisis y activa la captación de ácidos grasos desde las lipoproteínas debido a la activación de la LPL. La elevación posprandial de la glucemia y la insulina, junto con la disminución de los ácidos grasos, hace que se incremente el porcentaje de energía obtenida a través de la oxidación de glucosa y disminuya la procedente de la oxidación de los ácidos grasos. Por el contrario, la respuesta habitual a una comida rica en grasas es el incremento del almacenamiento de grasa sin estimulación de la oxidación de ácidos grasos **(Figura 10)**.

La composición de la mezcla de sustratos metabólicos destinada a la fosforilación oxidativa varía

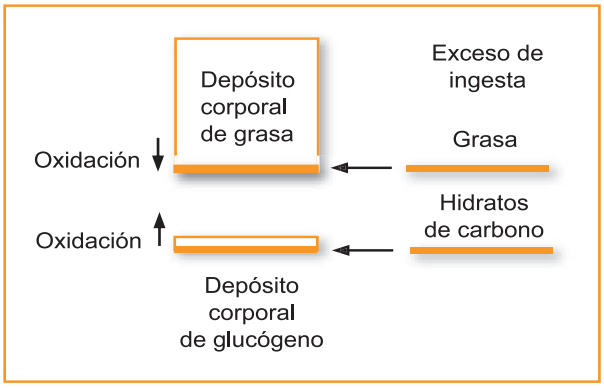


Figura 10. *Importancia del tamaño de los depósitos corporales de grasa e hidratos de carbono en la oxidación de los macronutrientes de la dieta. La adición de sustrato en el compartimento graso origina cambios insignificantes en su tamaño, por lo que no se produce el estímulo para la oxidación de la grasa de la dieta. Por el contrario, la adición de sustrato al compartimento de glucógeno provoca cambios marcados en su tamaño, lo que ocasiona un aumento de la oxidación de los hidratos de carbono ingeridos.*

considerablemente a lo largo del día. Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, estas oscilaciones afectan mínimamente al contenido proteico y mantienen las concentraciones de glucógeno hepático dentro de unos límites, ya que el organismo ha desarrollado mecanismos metabólicos y endocrinos que dan una mayor prioridad a ajustar la oxidación de glucosa y aminoácidos a la ingesta de hidratos de carbono y proteínas, respectivamente, que al mantenimiento del balance de grasa. Estas prioridades metabólicas no resultan sorprendentes si se tiene en cuenta la importancia funcional de las proteínas y la necesidad de aportar la cantidad de glucosa suficiente al cerebro y otras células y tejidos glucosa-dependientes. Así, las diferencias en los balances energéticos diarios pueden ser rápidamente acomodadas por ganancias o pérdidas en los depósitos grasos, que tienen una capacidad de reserva entre 50 y 200 veces mayor que el glucógeno hepático.

4.3.2. Alteraciones genéticas relacionadas

Numerosos estudios sugieren que aquellos individuos que genéticamente tienen una mayor capacidad para oxidar grasa presentan una menor tendencia a desarrollar obesidad. Algunas de las evidencias que avalan esta teoría son las que se exponen a continuación. Un aspecto importante relacionado con la capacidad oxidativa del individuo es la proporción de fibras de tipo I (oxidativas de contracción lenta), de tipo 2A (oxidativas/glucolíticas de contracción rápida) y de tipo 2B (glucolíticas de contracción rápida). Las fibras de tipo I y de tipo 2A son mucho más sensibles a la acción de la insulina que las de tipo 2B. Estudios llevados a cabo en ratas han puesto de manifiesto que en las ratas proclives a desarrollar obesidad el número de fibras de tipo I es mucho menor que en las ratas resistentes a la obesidad. En la misma línea se encuentran los estudios realizados en humanos, en los que se han encontrado correlaciones negativas entre el porcentaje de fibras lentas oxidativas de tipo I en el músculo *vastus lateralis* y el porcentaje de grasa corporal y el metabolismo en reposo. En otro tipo de trabajos se ha observado que tras la ingestión de una dieta hiperlipídica, la capacidad para aumentar la oxidación de las grasas es mayor en individuos con normopeso que en individuos obesos. Esta situación hace a los individuos obesos especialmente susceptibles a seguir desarrollando obesidad.

4.3.3. Importancia del estilo de vida

Parece que el seguimiento de dietas hiperlipídicas favorece el desarrollo de sobrepeso y obesidad ya que favorecen la ingesta de un exceso de energía. No obstante, se cree que el efecto que ejercen las dietas hiperlipídicas sobre la acumulación de grasa no se explica únicamente por este motivo, sino que también está relacionado con la diferente utilización metabólica de la grasa y los hidratos de carbono en el organismo. Como ya se ha expuesto, el exceso de grasa ingerida no puede ser oxidada en su totalidad por el organismo, por lo que su destino metabólico es el almacenamiento en el tejido adiposo.

Por otra parte, la práctica de ejercicio físico incrementa la actividad de la carnitina palmitoiltransferasa, la enzima limitante de la β-oxidación mitocondrial de ácidos grasos libres. Por tanto, una vida activa hace que sea más fácil equiparar la oxidación de grasa a la ingesta de este nutriente o, lo que es lo mismo, conseguir un balance de lípidos neutro. Ésta es una situación metabólica necesaria para evitar la acumulación de grasa corporal y para el mantenimiento del peso corporal.

5. Resumen

- El ser humano está dotado de un sistema muy complejo para el control energético, integrado por numerosos procesos que, en ocasiones, resultan redundantes. Este sistema permite a la mayoría de los adultos mantener estable el peso corporal durante periodos de tiempo prolongados, pese a las fluctuaciones diarias en el balance de energía. Este sistema está mejor preparado para hacer frente a situaciones de aporte de energía limitado que a situaciones de exceso de ingesta, es decir, que es más eficaz combatiendo la pérdida de peso que evitando el exceso del mismo. Esta situación ayuda a explicar la elevada prevalencia de obesidad en nuestros días.

.

- En la actualidad está teniendo lugar un claro incremento de la prevalencia de obesidad en las sociedades desarrolladas. Las características genéticas de cada individuo son un importante factor que condiciona la mayor o menor tendencia al desarrollo de obesidad. Sin embargo, el mencionado incremento en la prevalencia de obesidad no puede ser explicado por un repentino cambio genético, ya que este tipo de cambios se va produciendo a lo largo de varias generaciones. Esto indica que los factores ambientales, fundamentalmente los factores dietéticos y la actividad física, pueden tener una importancia considerable. En definitiva, los fallos en la regulación del peso corporal conducentes al desarrollo de sobrepeso y obesidad son el resultado de la interacción entre factores genéticos y factores ambientales.

- Los procesos involucrados en la regulación del peso y de la composición corporal hacen referencia al balance de energía y a procesos metabólicos que tienen lugar en el propio tejido adiposo. Así, alteraciones en la ingesta de energía o en alguno de los componentes del gasto energético (metabolismo basal, termogénesis, actividad física) pueden crear un balance de energía positivo que, a la larga, conducirá a un incremento de la masa adiposa. Los procesos responsables del control de la ingesta de alimento, tanto en lo que respecta a la cantidad como al tipo de alimento, dependen no sólo de señales internas, sino también de factores ambientales entre los que se incluyen los hábitos sociales, las características organolépticas y la presentación de los alimentos, que hacen que éstos resulten más o menos apetitosos. El complejo y heterogéneo sistema endógeno que controla la ingesta incluye el aparato gastrointestinal, los nutrientes circulantes, los depósitos de grasa y de glucógeno, el metabolismo celular, el sistema nervioso periférico que se encarga de transmitir las señales y el sistema nervioso central.

- Por lo que respecta a los procesos metabólicos propios del tejido adiposo, cabe señalar la importancia de la adipogénesis o formación de adipocitos maduros a partir de preadipocitos, la lipogénesis o síntesis de ácidos grasos para su posterior almacenamiento en forma de triglicéridos, la lipólisis o movilización de los triglicéridos almacenados para aportar ácidos grasos como fuente de energía a diferentes órganos y tejidos, y la distribución de macronutrientes entre los diferentes tejidos.

- En el presente Capítulo se analiza la medida en que la dotación genética de los individuos y el estilo de vida influyen en la regulación de la ingesta de alimentos y del gasto energético, así como en diversas rutas metabólicas determinantes de la acumulación de grasa corporal.

6. Bibliografía

Bender AE, Brookes LJ. Body Weight Control. Churchill Livingstone Ed. London, 1987.
Aunque este libro está muy centrado en la obesidad, dispone de algunos capítulos de interés en los que se tratan los siguientes aspectos: balance de energía, factores metabólicos que conducen a la obesidad, papel del ejercicio en el control del peso corporal y preferencias alimentarias por proteínas e hidratos de carbono.

Bouchard C, Bray GA. Regulation of Body Weight: Biological and Behavioural Mechanisms. Wiley. New York, 2000.
Este libro contiene capítulos interesantes que tratan de los modelos animales utilizados para estudiar la obesidad, las bases moleculares y genéticas de la regulación del peso corporal, los mecanismos metabólicos y bioquímicos involucrados en el desarrollo de obesidad y de los determinantes sociales.

Bray GA. An Atlas of Obesity and Weight Control. Parthenon Publishing Ed. Baton Rouge, 2003.
Se trata de un libro que aporta gráficos y figuras muy claros acerca de balance de energía y su control así como señales aferentes y eferentes relacionadas con la ingesta de alimento.

Bray GA, Bouchard, C. Handbook of Obesity, 2nd ed. Marcel Dekker. New York, 2003.
Se trata de un libro que trata diversos aspectos relacionados con la obesidad. Presentan especial interés los capítulos referentes a las bases genéticas de la obesidad.

Brownell KD, Fairburn CG. Eating Disorders and Obesity. The Gilford Press. New York, 1995.
Este libro está estructurado en varias partes. En la primera de ellas, que es la que tiene relación con el presente Capítulo, desarrolla varios capítulos destinados a los determinantes del comportamiento alimentario, a la relación entre la ingesta y el peso corporal, así como entre el gasto energético y el peso corporal. También considera los efectos de la edad, el embarazo y el consumo de tabaco sobre el peso.

European Commission. Study on Obesity and Functional Foods in Europe. Brussels, 2003.
Libro que contiene diversos capítulos relacionados con la termogénesis, la adipogénesis, la importancia de los hábitos alimentarios y de la actividad física en el desarrollo de la obesidad y con las interacciones entre genes y medio ambiente.

Jéquier E, Tappy L. Regulation of body weight in humans. Physiol Rev 1999; 79: 451-80.
Artículo de revisión que analiza con detalle cómo el control de la ingesta de alimento, el proceso termogénico y la leptina regulan el peso corporal.

Kinney JM, Tucker HN. Energy Metabolism. Raven Press. New York, 1992.
En este texto se describen con gran detalle aspectos variados del metabolismo, entre los que destacan la contribución de los diferentes órganos y tejidos al gasto energético total, la importancia del balance de energía y de nutrientes, la importancia del ejercicio físico y la termogénesis muscular.

Le Magnen J. Neurobiology of Feeding and Nutrition. Academic Press. San Diego, 1992.
En este libro se analiza cómo el sistema nervioso central regula el tamaño de las ingestas y las preferencias por determinados nutrientes, así como el balance de energía y nutrientes.

Obesidad. Anales del Sistema Sanitario de Navarra, 2002; 25 (Suppl 1).
Se trata de un suplemento de una revista que trata aspectos estrechamente relacionados con la temática de este Capítulo, tales como la leptina, las proteínas desacoplantes, la importancia de la distribución de los macronutrientes en la composición corporal y las causas de obesidad.

Smith GP. Satiation: From Gut to Brain. Oxford University Press. Oxford, 1998.
En este texto se describe el efecto saciante de la colecistoquinina, la bombesina, el glucagón, la insulina y la serotonina. Asimismo, se describen los receptores que median los efectos saciantes de los péptidos cerebrales e intestinales.

Tébar FJ, Garaulet M, García-Prieto MD. Regulación del apetito: nuevos conceptos. Rev Esp Obes 2003; 1: 13-20.
Se trata de un artículo breve pero muy claro en el que se describen los conceptos fundamentales de la regulación del apetito por parte diversos péptidos.

7. Enlaces web

- www.nutritiongate.com
- www.nlm.nih.gov/medlineplus/foodnutritionandmetabolism.html
- www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed
- www.nutrition.gov
- www.seedo.es
- www.who.int

1.19. Estrés oxidativo y mecanismos de defensa antioxidante

Marina Martínez Cayuela

Capítulo 1.19.

Estrés oxidativo y mecanismos de defensa antioxidante

1. Introducción

2. Naturaleza de los radicales libres de oxígeno

2.1. Oxígeno singlete

2.2. Radical superóxido

2.3. Peróxido de hidrógeno

2.4. Radical hidroxilo

3. Producción de radicales libres de oxígeno en los sistemas biológicos

3.1. Fuentes exógenas de radicales libres de oxígeno

3.2. Fuentes intracelulares de radicales libres de oxígeno

3.2.1. Pequeñas moléculas citosólicas

3.2.2. Hemoglobina y mioglobina

3.2.3. Proteínas enzimáticas

3.2.4. Peroxisomas

3.2.5. Cadena de transporte electrónico mitocondrial

3.2.6. Cadena de transporte electrónico microsomal

4. Citotoxicidad de los radicales libres de oxígeno

4.1. Proteínas

4.2. Lípidos

4.3. Ácidos nucleicos

4.4. Hidratos de carbono

5. Sistemas de defensa antioxidante

5.1. Sistemas de defensa antioxidante primarios

5.1.1. Enzimas

5.1.2. Secuestradores no enzimáticos

5.2. Sistemas de defensa antioxidante secundarios

5.2.1. Enzimas

5.2.2. Secuestradores no enzimáticos

6. Regulación de la expresión génica por especies reactivas de oxígeno

6.1. MAP kinasas
6.2. Proteína kinasa C (PKC)
6.3. NF-κB

7. Resumen

8. Bibliografía

9. Enlaces web

Objetivos

- Reconocer que el oxígeno es tóxico en determinadas condiciones celulares y que esa toxicidad está mediada por la formación de radicales libres a partir de él.
- Conocer lo que es un radical libre y valorar la importancia de su elevada reactividad.
- Identificar los diferentes tipos de radicales libres de oxígeno y describir sus características fundamentales.
- Describir las fuentes exógenas de radicales libres de oxígeno y los principales sistemas intracelulares productores de estas especies altamente reactivas.
- Analizar los daños oxidativos producidos por los radicales libres de oxígeno en los diferentes constituyentes celulares.
- Relacionar los daños oxidativos producidos por los radicales libres de oxígeno con la aparición de distintos tipos de enfermedades y alteraciones clínicas.
- Describir los principales sistemas enzimáticos de defensa antioxidante.
- Enumerar los distintos tipos de antioxidantes secuestradores de radicales libres y evaluar su papel como sistemas de defensa frente al estrés oxidativo.
- Comprender el papel de las especies reactivas de oxígeno en el control de la expresión génica.
- Aplicar los conocimientos adquiridos para diseñar posibles terapias en el tratamiento de patologías asociadas con los radicales libres de oxígeno.

1. Introducción

Todos los organismos aerobios requieren oxígeno para la producción eficiente de energía; sin embargo, el oxígeno puede resultar tóxico a concentraciones elevadas e incluso a concentraciones similares a las del aire. Una de las primeras patologías asociadas a la toxicidad del oxígeno fue la fibroplasia retrolental, que produjo, durante los años 40 del siglo XX, un gran número de casos de ceguera en niños prematuros. Hasta 1954 no se descubrió que esta enfermedad estaba relacionada con el uso de altas concentraciones de oxígeno en las incubadoras. La vasculatura retinal no está completamente desarrollada en los niños recién nacidos y menos aún en los prematuros. El crecimiento de los vasos retinales en condiciones de hiperoxia está inhibido pero, al volver a la atmósfera normal, se induce su recrecimiento debido a la segregación de factores angiogénicos por parte de las células retinales. Esto da lugar a la formación de tejido fibroso detrás del cristalino, desprendimiento de retina y ceguera.

La toxicidad del oxígeno no se debe a la propia molécula de oxígeno, sino a la producción, a partir del mismo, de especies parcialmente reducidas altamente reactivas. Fueron Rebecca Gershman y Daniel L. Gilbert quienes propusieron que la mayor parte de los efectos nocivos del oxígeno podían ser atribuidos a la formación de radicales libres que se originaban a partir de él.

Los radicales libres forman parte de muchas reacciones metabólicas y se producen en el organismo incluso en condiciones normales de disponibilidad de oxígeno. Algunos resultan útiles en muchos procesos como, por ejemplo, en la degradación de la bilirrubina del recién nacido por la luz, en el tratamiento de la psoriasis o de ciertos tipos de cáncer de piel, en la fagocitosis, etc. Ahora bien, cuando estas especies reactivas se producen en exceso, o bien cuando los sistemas de defensa antioxidante fallan, los radicales libres pueden reaccionar con los diferentes componentes celulares y el daño oxidativo aparece.

Los radicales libres de oxígeno son los principales mediadores en las reacciones de los radicales libres, posiblemente por la ubicuidad del oxígeno molecular o por su capacidad para captar fácilmente electrones; es por ello por lo que se estudiarán estos radicales libres. Se repasarán, en primer lugar, el concepto de radical libre y los principales radicales libres de oxígeno que existen, después se estudiarán los sistemas biológicos de producción de éstos, se analizarán también los daños que ocasionan en los componentes estructurales de las células y, a continuación, se tratarán los sistemas que poseen éstas para defenderse del daño oxidativo. Muchas especies reactivas de oxígeno (ROS) afectan a la transcripción de distintos genes, por lo que, en ocasiones, se han considerado moléculas señalizadoras intracelulares. En este Capítulo, finalmente, se hablará del papel de las especies reactivas de oxígeno en el control de la expresión génica. Otros radicales libres, como los derivados del nitrógeno, serán tratados más adelante, en el Capítulo 4.31.

2. Naturaleza de los radicales libres de oxígeno

Un radical libre es una especie química que contiene uno o más electrones desapareados en sus orbitales externos. Debido a su configuración electrónica, los radicales libres son inestables y extremadamente reactivos, puesto que rápidamente extraen electrones de las moléculas cercanas; por tanto, presentan una vida media corta y una concentración en estado estacionario baja. En la **Tabla 1** se indican los principales tipos de reacciones biológicas en las que participan los radicales libres. Un compuesto no radical libre puede convertirse en radical libre por ganancia o pérdida de un electrón. Los radicales libres también pueden formarse fácilmente cuando un enlace covalente se rompe dejando un electrón de la pareja compartida en cada uno de los átomos que estaban unidos; a este proceso se le denomina fisión homolítica **(Ecuación 1)**. Normalmente cuando un enlace covalente se rompe lo hace de forma heterolítica, es decir, uno de los átomos retiene ambos electrones y resulta un ión cargado negativamente, y el otro átomo pierde un electrón y, por lo tanto, se convierte en un ión cargado positivamente **(Ecuación 2)**.

$$A{:}B \rightarrow A^{\cdot} + B^{\cdot} \qquad (1)$$

$$A{:}B \rightarrow A{:}^{-} + B^{+} \qquad (2)$$

La molécula de oxígeno puede ser calificada de birradical, puesto que tiene dos electrones desapareados, cada uno localizado en un orbital antienlazante π^* diferente. Éste es el estado más estable del oxígeno y se denomina estado fundamental. El oxígeno en su estado fundamental, a pesar de ser un potente oxidante, es poco reactivo. La reactividad que cabría esperar en la molécula de oxígeno como tal birradical se encuentra reducida a causa de las direcciones paralelas de los espines de sus dos electrones desapareados. Si el oxígeno intenta oxidar otro átomo o molécula no radical aceptando un par de electrones, éstos han de tener espines paralelos para acoplarse en los espacios vacantes de los orbitales π^*. Según el principio de exclusión de Pauli, los espines de los electrones en un orbital atómico o molecular han de tener direcciones opuestas. Este hecho, por tanto, impone una restricción en las reacciones de oxidación por el oxígeno. Aunque, en principio, la restricción de espín parece ventajosa para los organismos aerobios, porque enlentece las reacciones del oxígeno, ésta crea una situación en la que la transferencia de un electrón puede ocurrir, permitiéndose, de este modo, la formación de un radical libre.

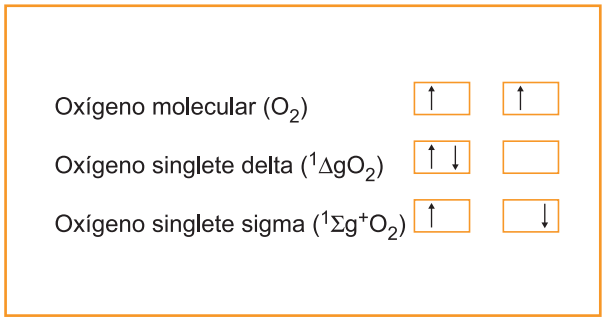


Figura 1. *Disposición de los electrones en los orbitales antienlazantes π^* del oxígeno.*

La reactividad del oxígeno molecular puede aumentar por inversión del espín de uno de los electrones de sus orbitales externos para formar los oxígenos singlete, o bien por su reducción secuencial y univalente para producir intermediarios radicales libres de oxígeno **(Figuras 1 y 2)**. En la **Tabla 2** se indican especies reactivas de oxígeno (ROS) que se producen en los sistemas biológicos.

Tabla 1. PRINCIPALES REACCIONES BIOLÓGICAS EN LAS QUE PARTICIPAN LOS RADICALES LIBRES

$A^{\cdot} + B^{\cdot} \rightarrow A\text{-}B$	Combinación
$A^{\cdot} + B\text{-}C\text{-}D^{\cdot} \rightarrow A\text{-}B + C{=}D$	Desproporcionación
$A\text{-}B^{\cdot} \rightarrow A^{\cdot} + B$	Fragmentación
$A^{\cdot} + B\text{-}C \rightarrow A\text{-}B + C^{\cdot}$	Transferencia de radical
$A^{\cdot} + B{=}C \rightarrow A\text{-}B\text{-}C^{\cdot}$	Adición

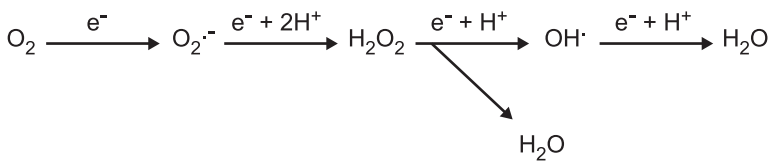


Figura 2. *Reducción secuencial y univalente del oxígeno molecular.*

Tabla 2. PRINCIPALES ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO QUE SE PRODUCEN EN LOS SISTEMAS BIOLÓGICOS

$O_2^{\cdot -}$	Radical anión superóxido
$HO_2^{\cdot}$	Radical perhidroxilo
H_2O_2	Peróxido de hidrógeno
$OH^{\cdot}$	Radical hidroxilo
$RO^{\cdot}$	Radical alcoxilo
$ROO^{\cdot}$	Radical peroxilo
$^1\Delta gO_2$	Oxígeno singlete Δ
O_2	Oxígeno molecular

2.1. Oxígeno singlete

Los espines paralelos de los dos electrones de los orbitales externos del oxígeno molecular pueden convertirse en antiparalelos mediante un impulso de energía, originando los oxígenos singlete. Hay dos tipos de oxígenos singlete: el oxígeno singlete ($^1\Delta gO_2$), que es el de mayor importancia biológica debido a su larga vida media, y el oxígeno singlete Σ ($^1\Sigma g^+O_2$), muy reactivo, pero con una vida media corta porque, tras formarse, rápidamente decae al estado de oxígeno singlete . La excitación del oxígeno molecular a oxígeno singlete puede llevarse a cabo por distintos pigmentos biológicos, como la clorofila o el retinal, cuando son iluminados con luz de una determinada longitud de onda en presencia de O_2. El pigmento absorbe la luz, entra en un estado de excitación electrónica más elevado y, entonces, transfiere energía al O_2 para formar oxígeno singlete mientras vuelve a su estado original.

2.2. Radical superóxido

El ión radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$) se forma cuando la molécula de oxígeno molecular es reducida por un electrón.

Esta especie química es muy reactiva y bastante inestable en soluciones acuosas, puesto que es capaz de reaccionar espontáneamente consigo misma, mediante una reacción de dismutación, para producir peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno molecular **(Ecuación 3)**. A pH neutro o fisiológico esta reacción de dismutación está catalizada por la superóxido dismutasa (SOD), enzima de la que se hablará más adelante. El oxígeno singlete puede ser formado también durante la dismutación del superóxido; sin embargo, sólo menos del 0,008% del oxígeno producido de este modo está en el estado singlete.

$$O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2 \qquad (3)$$

A pH bajo el radical superóxido puede estar en su forma protonada como radical perhidroxilo ($HO_2^{\cdot}$), a partir del cual rápidamente se genera peróxido de hidrógeno **(Ecuación 4)**.

$$HO_2^{\cdot} + e^- + H^+ \rightarrow H_2O_2 \qquad (4)$$

Tabla 3. EFECTOS DE LA RADIACIÓN IONIZANTE EN UN SISTEMA ACUOSO Y EN PRESENCIA DE OXÍGENO

$$H_2O \rightarrow H_2O^+ + e^-$$
$$H_2O + e^- \rightarrow H_2O^-$$
$$H_2O^+ \rightarrow H^+ + OH^\cdot$$
$$H_2O^- \rightarrow H^\cdot + OH^-$$
$$O_2 + H^\cdot \rightarrow HO_2^\cdot$$
$$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot -}$$
$$O_2^{\cdot -} + H^+ \rightarrow HO_2^\cdot$$
$$2HO_2^\cdot \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

2.3. Peróxido de hidrógeno

Cuando dos electrones reducen la molécula de oxígeno se produce el ión peróxido (O_2^{2-}), cuya forma protonada es el peróxido de hidrógeno. La dismutación del $O_2^{\cdot -}$ por la SOD es la fuente principal de peróxido de hidrógeno. Este compuesto no es un radical libre y, en general, no es tan reactivo como para oxidar muchas moléculas orgánicas en un medio acuoso; no obstante, se considera un oxidante biológicamente importante porque a partir de él, por su interacción con metales de transición, se genera el radical libre hidroxilo ($OH^\cdot$). El H_2O_2 es muy peligroso para las células, porque normalmente no está ionizado y puede difundir a través de las membranas.

2.4. Radical hidroxilo

La reducción del oxígeno molecular por tres electrones origina el radical libre hidroxilo. Ésta es una especie química altamente reactiva que puede reaccionar con cualquier molécula biológica a una velocidad de 10^7-10^{10} mol/s; su vida media y su radio de acción, por lo tanto, son extremadamente cortos (fracciones de microsegundo y 30 Å, respectivamente). La principal fuente de radicales hidroxilo es la reacción de Haber-Weiss **(Ecuación 7)**, que resulta del balance de dos reacciones **(Ecuaciones 5 y 6)**, la segunda de las cuales es la reacción de Fenton, que necesita un quelato de hierro para que se produzca. Otros metales de transición, del mismo modo, aceleran la producción de radicales hidroxilo.

$$O_2^{\cdot -} + Fe^{3+} \rightarrow O_2 + Fe^{2+} \quad (5)$$

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^\cdot \quad (6)$$

$$O_2^{\cdot -} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^- + OH^\cdot \quad (7)$$

3. Producción de radicales libres de oxígeno en los sistemas biológicos

Los radicales libres se pueden producir en las células por varios procesos y reacciones:

1. Radiaciones sobre fotosensibilizadores como el retinal, la riboflavina, la clorofila o la bilirrubina.
2. Reacciones redox con metales de transición.
3. Reacciones redox catalizadas por enzimas.

3.1. Fuentes exógenas de radicales libres de oxígeno

La radiación ionizante, la radiación ultravioleta y las radiaciones particuladas son fuentes de radicales libres por transferir su energía a componentes celulares como el agua. Estas radiaciones causan la fisión heterolítica del agua para producir átomos de hidrógeno, electrones hidratados y radicales hidroxilo y, en presencia de oxígeno, radical superóxido y peróxido de hidrógeno **(Tabla 3)**.

La luz visible de longitud de onda apropiada puede causar fotólisis de los enlaces químicos para generar radicales libres. Este proceso ocurre especialmente en presencia de fotosensibilizadores.

Distintos compuestos entre los que se encuentran pesticidas, contaminantes atmosféricos, el humo del tabaco, anestésicos, antimicrobianos, fármacos anticancerígenos y otros medicamentos, cuando son metabolizados en el organismo, dan lugar a radicales libres. Realmente muchos de estos xenobióticos ejercen su efecto tóxico mediante su activación metabólica a productos intermediarios que son radicales libres. Cuando estos compuestos son reducidos por un electrón, se producen espe-

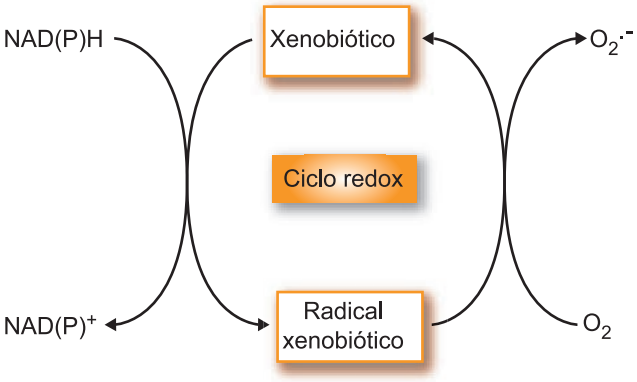


Figura 3. *Ciclo redox de xenobióticos.*

Tabla 4. COMPUESTOS CUYA TOXICIDAD PUEDE ESTAR RELACIONADA CON LA FORMACIÓN DE RADICALES LIBRES

Xenobiótico	Uso
Adriamicina	Antitumoral
Bleomicina	Antitumoral
Cloroformo	Disolvente orgánico
Daunomicina	Antitumoral
Dióxido de nitrógeno	Contaminante atmosférico
Diquat	Herbicida
Etanol	Bebida alcohólica
Fleomicinas	Antitumoral
Halotano	Anestésico
Hidralazina	Antihipertensivo
Iproniazida	Antidepresivo
Isoniazida	Antimicobacteriano
Metronidazol	Antimicrobiano
Nitrofurantoína	Antimicrobiano
Paracetamol	Analgésico y antipirético
Paraquat	Herbicida
Primaquina	Fármaco antimalaria
Psoralenos	Tratamiento de enfermedades de la piel
Sulfonamidas	Antibacteriano
Talisomicinas	Antitumoral
Tetracloruro de carbono	Disolvente orgánico

cies que reaccionan con el oxígeno molecular para formar radical superóxido y generar la molécula original. Esta reacción normalmente está catalizada por la NADPH-cit P-450 reductasa, una flavoproteína que utiliza NAD(P)H como dador electrónico. Si estas moléculas oxidadas se reducen de nuevo, se establece un ciclo redox en el que hay un consumo desproporcionado de oxígeno molecular y de equivalentes redox **(Figura 3)**. De esta manera, las especies reactivas de oxígeno que se forman dan lugar a un estrés oxidativo que provocará graves daños celulares. La **Tabla 4** muestra compuestos cuya toxicidad puede ser atribuida a los radicales libres de oxígeno.

3.2. Fuentes intracelulares de radicales libres de oxígeno

Además de las fuentes exógenas de radicales libres de oxígeno, hay distintos sistemas intracelulares que están implicados en la producción de estos radicales **(Figura 4)**.

3.2.1. Pequeñas moléculas citosólicas

La autooxidación de pequeñas moléculas citosólicas puede producir radicales libres de oxígeno. Algunos ejemplos de estas moléculas son las catecolaminas, flavinas, tetrahidropterinas, quinonas o los tioles y difenoles.

En todos los casos, como consecuencia de la reducción univalente del oxígeno molecular, se produce $O_2^{\cdot -}$. Además, si la molécula original es regenerada por agentes reductores, un ciclo redox no enzimático se establece.

Este proceso de autooxidación comienza o se acelera en presencia de metales de transición.

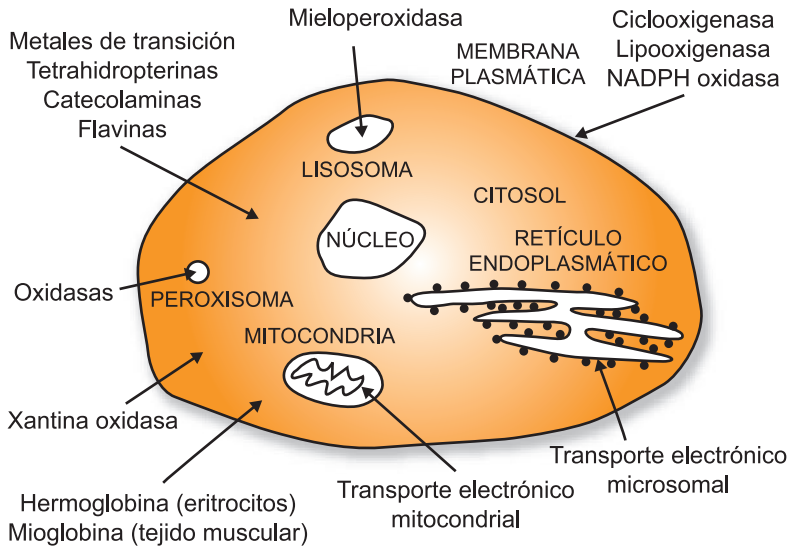


Figura 4. *Fuentes intracelulares de radicales libres de oxígeno.*

3.2.2. *Hemoglobina y mioglobina*

Las cadenas polipeptídicas de la hemoglobina y la mioglobina pueden autooxidarse al igual que el hierro de sus grupos hemo. Cuando el hierro de la hemoglobina y mioglobina liga O_2, está normalmente como hierro ferroso, pero cierta deslocalización electrónica que existe permite que se dé este equilibrio:

$$\text{HEMO-Fe}^{2+}\text{-O}_2 \rightarrow \text{HEMO-Fe}^{3+}\text{-O}_2^{\cdot -}$$

Estas moléculas oxigenadas en ocasiones se descomponen para dar radical superóxido y metahemoglobina o metamioglobina (HEMO-Fe^{3+}), que no pueden unirse al oxígeno. Normalmente, sólo un 3% de la hemoglobina de los glóbulos rojos está como metahemoglobina. La oxidación de la hemoglobina y la mioglobina se puede acelerar por metales de transición o por nitrito (NO_2^-).

En las zonas rurales, donde se abona excesivamente con nitratos (NO_3^-), éstos pueden pasar al intestino y ser reducidos por las bacterias intestinales a nitritos, los cuales pueden absorberse y provocar suficiente metahemoglobina como para interferir con la oxigenación de los tejidos corporales. Las hemoglobinas anormales presentan mayores porcentajes de metahemoglobina.

3.2.3. *Proteínas enzimáticas*

Algunas enzimas generan radicales libres de oxígeno durante su ciclo catalítico; por lo tanto, regulando la actividad de estas enzimas se puede controlar la concentración de radicales libres de oxígeno. La monoamina oxidasa desamina la dopamina y forma H_2O_2 en las neuronas. La aldehído oxidasa oxida aldehídos en el hígado y libera $O_2^{\cdot -}$. La óxido nítrico sintasa, que sintetiza óxido nítrico ($NO^{\cdot}$) a partir de arginina, cuando está con sus cofactores y sin arginina puede producir $O_2^{\cdot -}$ en distintos tipos celulares. La ciclooxigenasa y la lipooxigenasa, enzimas de la ruta biosintética de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, también liberan radicales libres de oxígeno. Estos radicales pueden inactivar las enzimas que los originan y, de esta forma, regular la ruta en la que participan.

Por otra parte, se ha demostrado que la ciclooxigenasa es capaz de metabolizar asimismo ciertos xenobióticos hasta especies más tóxicas

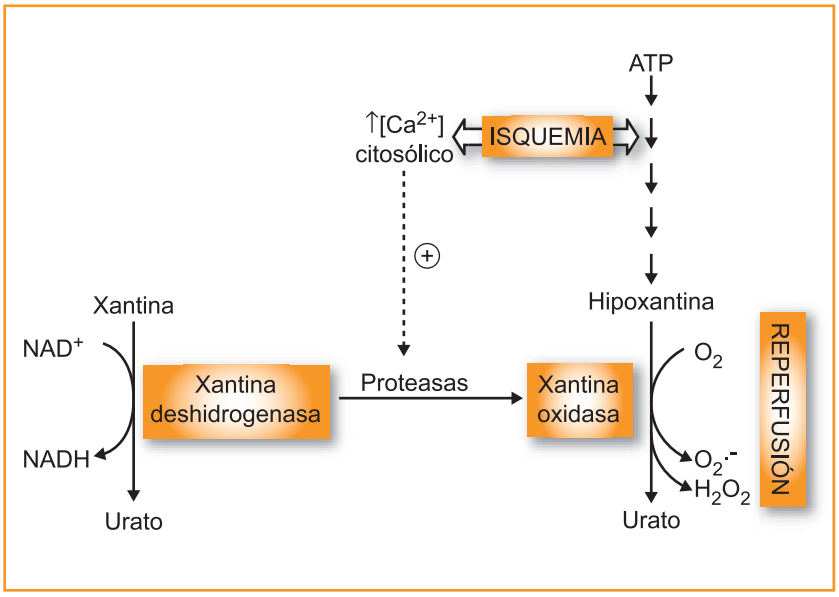


Figura 5. *Producción de especies reactivas de oxígeno durante el proceso de isquemia-reperfusión.*

que pueden reaccionar con el oxígeno molecular para dar lugar a nuevas especies reactivas de oxígeno.

Además de las anteriores, una fuente importante de radicales libres de oxígeno es la xantina oxidasa. Esta enzima, en condiciones normales, presenta actividad deshidrogenasa y oxida la xantina a ácido úrico utilizando NAD^+. Ahora bien, cuando la carga energética desciende, por ejemplo, como consecuencia de una isquemia, la enzima funciona como oxidasa, utiliza oxígeno molecular para oxidar su sustrato y produce radical superóxido y peróxido de hidrógeno. La disfunción de los canales de calcio durante un periodo isquémico libera los iones calcio de sus reservorios y éstos activan las proteasas que catalizan la conversión de la xantina deshidrogenasa en xantina oxidasa. La xantina oxidasa no actúa como tal hasta la reoxigenación **(Figura 5)**. Esto es lo que justificaría el daño producido en muchos tejidos durante la reperfusión de un órgano después de un periodo isquémico.

Otra fuente importante de radicales libres de oxígeno lo constituye la NADPH oxidasa. Cuando partículas extrañas invaden el organismo, se dispara la respuesta inflamatoria. Durante el proceso, los macrófagos y los neutrófilos, activados por contacto con la sustancia extraña, incrementan su consumo de O_2, que es transformado en $O_2^{\cdot -}$, el cual es entonces convertido en peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo **(Figura 6)**. Esta "llamarada respiratoria" es debida a un complejo enzimático localizado en la cara externa de la membrana plasmática y denominado NADPH oxidasa. Distintas rutas de transducción de señales de membrana están implicadas en la translocación de las proteínas citoplasmáticas que permiten el ensamblaje y la activación del complejo enzimático de la NADPH oxidasa. La NADPH oxidasa contiene FAD y un tipo de citocromo b_5 con un potencial redox suficientemente bajo como para reducir con electrones del NADPH el O_2 a $O_2^{\cdot -}$. De esta manera, las partículas extrañas quedan expuestas a la toxicidad de los radicales libres de oxígeno en la vacuola fagocítica. La mieloperoxidasa lisosomal que se libera en la vacuola puede formar, en presencia de H_2O_2 y haluros, ácido hipocloroso **(Figura 6)**. Este ácido es muy reactivo y puede oxidar distintas moléculas biológicas; además, puede reaccionar con el $O_2^{\cdot -}$ para producir $OH^{\cdot}$, o con el H_2O_2 para producir oxígeno singlete.

3.2.4. Peroxisomas

Se ha demostrado que los proliferadores de peroxisomas provocan estrés oxidativo y cáncer. Los peroxisomas son orgánulos con una gran capacidad para formar H_2O_2 porque contienen muchas oxidasas que catalizan la reducción divalente del O_2 sin formación del radical superóxido. Algunas de estas enzimas son: las aminoácido oxidasas, la glicolato oxidasa o la urato oxidasa. Asimismo, en el metabolismo de los ácidos grasos, durante la β-oxidación peroxisomal, también se genera H_2O_2.

En cualquier caso, los peroxisomas contienen catalasa, una enzima que puede reducir el peróxido de hidrógeno para dar agua y oxígeno molecular; por lo tanto, no se puede saber cuál es la contribución real del H_2O_2 producido en estos orgánulos al estrés oxidativo.

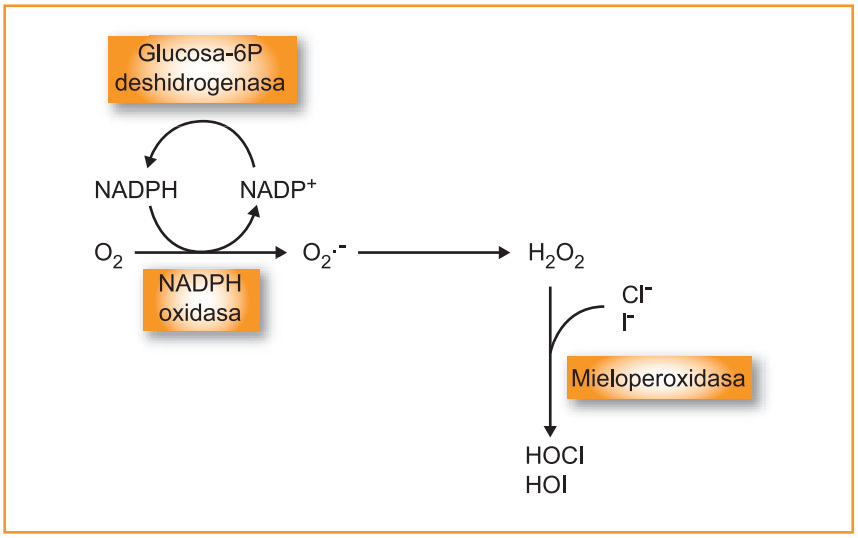


Figura 6. *Producción de especies reactivas de oxígeno durante la "llamarada respiratoria".*

triz mitocondrial a través de la ATP sintasa, la energía liberada al romperse este gradiente impulsa la síntesis de ATP a partir de ADP y P_i.

Entre el 80 y el 90% del oxígeno respirado lo consumen las mitocondrias en la cadena respiratoria y, de ese porcentaje, entre el 1 y el 3% se emplea para generar $O_2^{\cdot -}$; de ahí que la mitocondria sea la fuente principal de radicales libres de oxígeno. Este hecho justifica que con la restricción calórica disminuyan los niveles basales de lesiones oxidativas y se retrasen los cambios asociados a la edad. Realmente, se ha comprobado que la longevidad de las especies es inversamente proporcional a la generación de $O_2^{\cdot -}$ y H_2O_2 en la mitocondria.

3.2.5. Cadena de transporte electrónico mitocondrial

Las mitocondrias han sido descritas como "centrales eléctricas celulares", porque son capaces de extraer la energía interna de los sustratos energéticos oxidables, convirtiéndola en ATP.

Durante las oxidaciones biológicas se generan transportadores electrónicos reducidos, NADH(H^+) y $FADH_2$, que se oxidan en la cadena respiratoria (*ver Capítulo 1.2*). La cadena respiratoria o cadena de transporte electrónico mitocondrial, localizada en la membrana interna mitocondrial, está constituida por dos transportadores móviles, el coenzima Q o ubiquinona y el citocromo *c*, y cuatro complejos multiproteicos denominados NADH-ubiquinona oxidorreductasa (complejo I), succinato-ubiquinona oxidorreductasa (complejo II), ubiquinol-citocromo *c* oxidorreductasa (complejo III) y citocromo *c* oxidasa (complejo IV). Los complejos I y II reciben los electrones de la oxidación del NADH y del succinato, respectivamente, y los ceden al coenzima Q. El complejo III oxida la forma reducida del coenzima Q y, a su vez, reduce el citocromo *c*. Finalmente, el complejo IV acopla la oxidación del citocromo *c* con la reducción del O_2 a agua. Durante el transporte de estos electrones, se bombean protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembranoso, creándose de este modo un gradiente de protones. Cuando los protones vuelven a entrar a la matriz mitocondrial a través de la ATP sintasa, la energía liberada al romperse este gradiente impulsa la síntesis de ATP a partir de ADP y P_i.

Los radicales $O_2^{\cdot -}$ aparecen en la mitocondria a ambos lados de la membrana mitocondrial interna. Si se producen en la cara exterior se convierten en H_2O_2 por la CuZnSOD, y si aparecen en la interior, por la MnSOD. El H_2O_2 se puede eliminar por la glutatión peroxidasa dependiente de selenio (SeGSHpx) y, si no se elimina, puede participar en la reacción de Fenton para formar radicales hidroxilo en presencia de iones de cobre o de hierro **(Figura 7)**.

La citocromo oxidasa cataliza la reducción tetravalente del oxígeno molecular para producir agua **(Ecuación 8)**. Este sistema está diseñado de manera que no se liberan intermediarios parcialmente reducidos que serían radicales libres de oxígeno. Sin embargo, los radicales libres de oxígeno sí se producen en otros lugares diferentes de la citocromo oxidasa. Esos lugares son el complejo I y el complejo III. Las ubisemiquinonas ($QH^{\cdot}$) que se generan en estos complejos durante las reacciones del transporte electrónico en la cadena respiratoria donan sus electrones al oxígeno y proporcionan una fuente constante de radicales superóxido.

$$O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2\ H_2O \qquad (8)$$

El mecanismo exacto de cómo y dónde se generan las semiquinonas por los componentes del

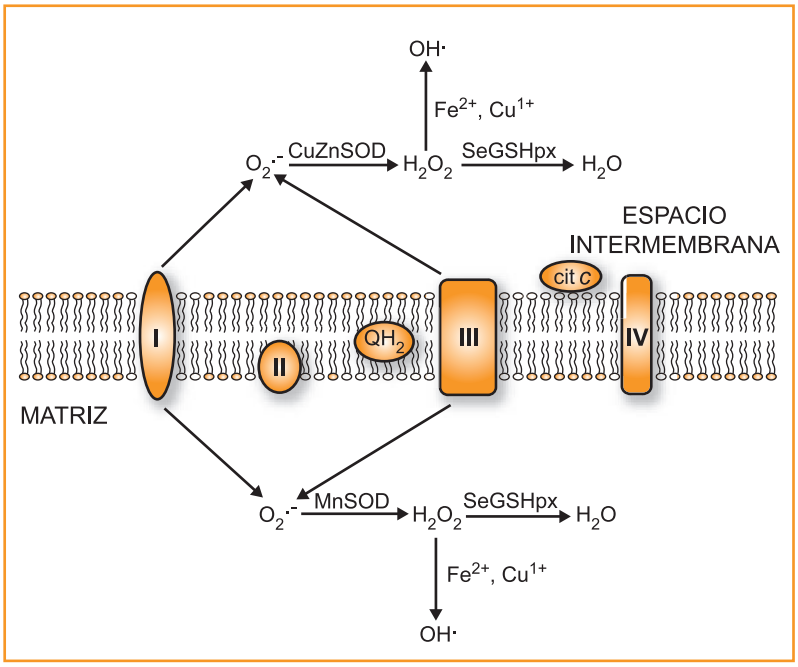


Figura 7. *Generación de especies reactivas de oxígeno en la mitocondria. CuZnSOD: CuZn superóxido dismutasa; MnSOD: Mn superóxido dismutasa; SeGSHpx: glutatión peroxidasa dependiente de selenio.*

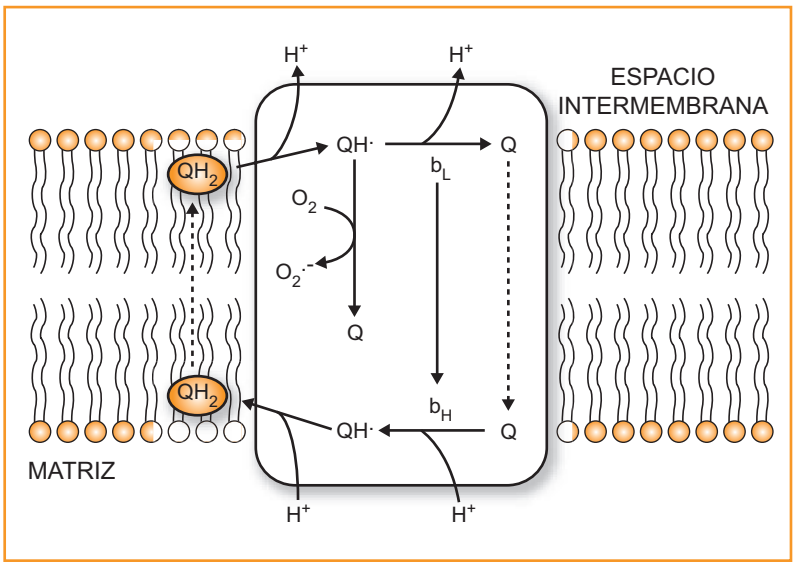


Figura 8. *Producción de radical superóxido en el complejo III.*

de la semiquinona cede su electrón a un aceptor.

Con respecto al complejo III, se pueden generar especies semiquinona de dos formas diferentes. El ubiquinol (QH_2) dona un electrón a la proteína ferrosulfurada del complejo, generando una semiquinona, que está próxima a la superficie externa de la membrana interna mitocondrial y que reduce el citocromo *b* (b_L) y forma ubiquinona (Q). Otro citocromo *b* (b_H), que está más próximo al lado de la matriz mitocondrial de la membrana, acepta un electrón del citocromo b_L y reduce la ubiquinona a semiquinona que, con otro electrón, se convertirá en ubiquinol **(Figura 8)**. Se ha demostrado que los $O_2^{\cdot -}$ se generan, fundamentalmente, a partir de las semiquinonas que se forman cerca del lado citosólico de la membrana interna mitocondrial.

En cualquier caso, la velocidad fisiológica de producción de radicales libres de oxígeno mitocondrial en la cadena respiratoria depende del estado metabólico de la mitocondria. Así, a una velocidad de respiración baja y sin disponibilidad de ADP, se favorece la liberación de $O_2^{\cdot -}$ y H_2O_2, probablemente como consecuencia del alto estado de reducción de los componentes de la cadena respiratoria. Sin embargo, cuando hay una elevada captación de oxígeno y una gran disponibilidad de ADP, la producción de $O_2^{\cdot -}$ y H_2O_2 disminuye, debido al estado de oxidación de esos componentes de la cadena respiratoria.

complejo I no está totalmente claro. Se cree que los sitios de formación de esas semiquinonas están próximos a los sitios de unión de los inhibidores rotenona y piericidina; de ahí que estos inhibidores incrementen la producción de radicales superóxido en la mitocondria al bloquear el sitio don-

3.2.6. Cadena de transporte electrónico microsomal

Los sistemas de transporte electrónico microsomal también producen $O_2^{\cdot -}$ y H_2O_2. Se ha comprobado que cuando las fracciones microsomales

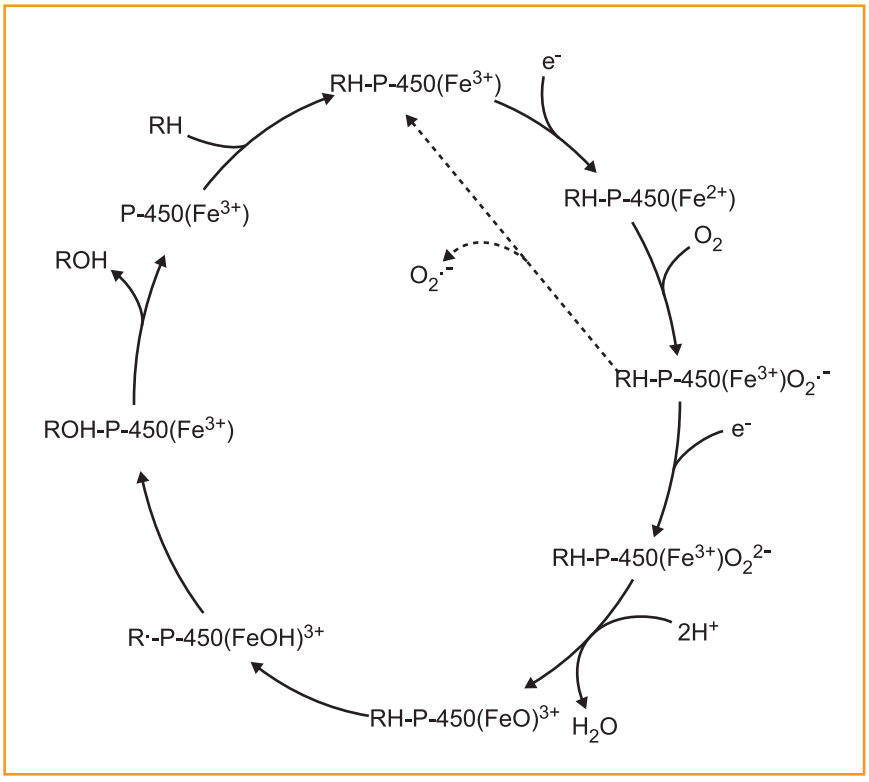


Figura 9. *Producción de radical superóxido durante la hidroxilación enzimática con intervención de NADPH y citocromo P-450.*

se incuban con NADPH se producen radicales libres de oxígeno, a mayor velocidad cuanto mayor es la concentración de oxígeno.

El citocromo P-450 es un conjunto de proteínas hémicas localizadas fundamentalmente en el retículo endoplásmico e implicadas en el metabolismo de xenobióticos. Su función es oxidar sustratos a expensas del O_2; un átomo de oxígeno se une al sustrato y otro forma agua. Los electrones requeridos por el citocromo P-450 los dona el NADPH a través de una flavoproteína llamada NADPH-citocromo P-450 reductasa. Los radicales libres de oxígeno en este sistema se producen de dos maneras: por la autooxidación de la NADPH-citocromo P-450 reductasa o por desacoplamiento del ciclo catalítico del P-450. El desacoplamiento del ciclo redox normal de estos citocromos es inducido por distintos compuestos por razones desconocidas y provoca un desvío del flujo de electrones hasta el O_2 para producir $O_2{\cdot}^-$, en lugar de reducir el sustrato. En la **Figura 9** se muestra la oxidación dependiente de O_2 y NADPH de un sustrato RH. La generación de $O_2{\cdot}^-$ podría ser el precio que los animales han de pagar por su capacidad para destoxificar.

El sistema desaturante microsomal encargado de la introducción de dobles enlaces en los ácidos grasos contiene una flavoproteína que es una reductasa, una desaturasa y un citocromo b_5. Este sistema necesita también NADH o NADPH y O_2 para oxidar sus sustratos. Los electrones se transfieren por la citocromo b_5 reductasa desde el NAD(P)H al citocromo b_5 y de ahí a la desaturasa, que oxida el ácido graso con O_2 y forma agua. Por causas desconocidas, el citocromo b_5 y la flavoproteína pueden ceder electrones al oxígeno molecular y formar $O_2{\cdot}^-$.

La membrana nuclear tiene también una cadena de transporte electrónico, de función desconocida, que es capaz de ceder electrones al O_2 para generar $O_2{\cdot}^-$ a altas concentraciones de O_2 y en presencia de NADH o NADPH.

4. Citotoxicidad de los radicales libres de oxígeno

Las interacciones de los radicales libres de oxígeno con los constituyentes celulares dan lugar a alteraciones en el metabolismo celular y provocan daños subcelulares que pueden conducir a la aparición de la enfermedad e incluso a la muerte **(Figura 10)**. Realmente, la principal amenaza para la homeostasis de los organismos aerobios proviene de los intermediarios reactivos de oxígeno y de los subproductos generados durante el metabolismo oxidativo. Existen numerosos datos que demuestran la implicación de los radicales libres de oxígeno en el desarrollo de muchas patologías y en los procesos de envejecimiento. En la **Tabla 5** se enumeran solamente algunas de las enfermedades

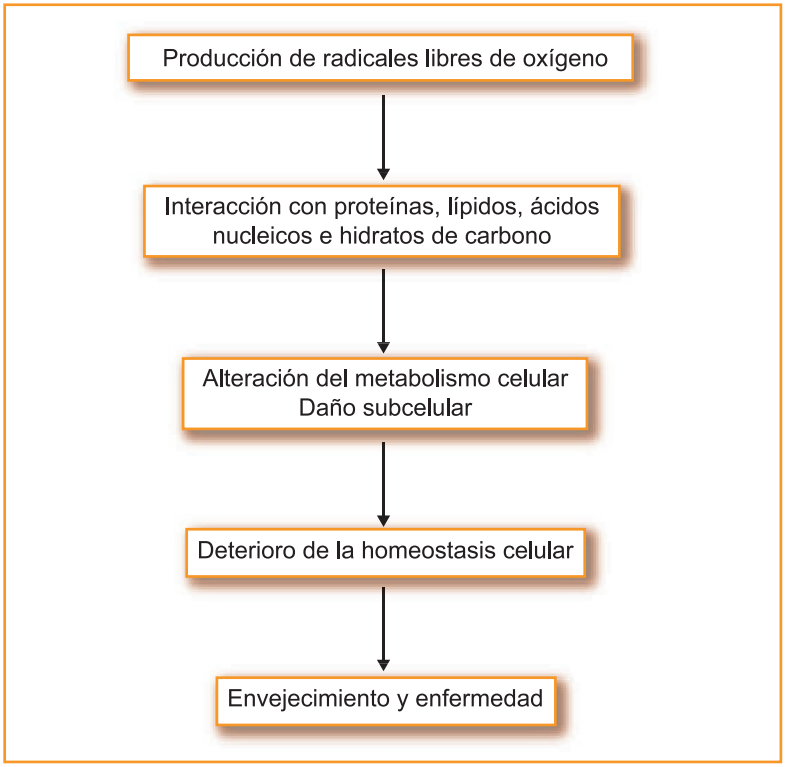


Figura 10. *Esquema general de cómo la generación de radicales libres puede dar lugar a la disfunción celular.*

y alteraciones clínicas que están relacionadas con la formación de radicales libres.

Los radicales libres, incluyendo los derivados del oxígeno molecular, son capaces de interaccionar con casi cualquiera de las biomoléculas que constituyen las células. Las proteínas, los lípidos, los ácidos nucleicos y los hidratos de carbono son los blancos fundamentales de las reacciones de los radicales libres de oxígeno y son los que se estudian en este apartado **(Figura 11)**. No obstante, otros componentes celulares también pueden ser sensibles a los efectos de estos potentes oxidantes; entre estos componentes se encuentran neurotransmisores como la serotonina o la adrenalina, distintos cofactores enzimáticos, antioxidantes, aminoácidos aromáticos y con azufre y bases púricas y pirimidínicas.

4.1. Proteínas

La susceptibilidad de las proteínas al daño por radicales libres depende de su composición aminoacídica. Debido a la reactividad de los radicales libres con las moléculas con dobles enlaces o que contengan grupos azufre, las proteínas con gran proporción de los aminoácidos triptófano, tirosina, fenilalanina, histidina, metionina y cisteína pueden sufrir fácilmente el ataque de los radicales libres. En cualquier caso, la magnitud del daño oxidativo dependerá de si estos aminoácidos forman parte de grupos funcionales responsables de la actividad y/o conformación de esas proteínas. En este sentido, se ha comprobado que enzimas tales como la papaína o la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, cuya actividad catalítica depende de esos aminoácidos, se inhiben en presencia de radicales libres. La α-1-antiproteasa también se inactiva cuando la metionina de su centro activo es oxidada a sulfóxido. Esta proteína constituye el principal protector del tejido pulmonar frente a la actividad proteolítica de la elastasa; así, se ha sugerido que su inactivación por parte de los radicales libres contenidos en el humo del tabaco podría relacionarse con el desarrollo de enfisema en fumadores. Los radicales libres del humo del tabaco también incrementan el acúmulo de neutrófilos en el pulmón que, cuando se activan, provocan un daño adicional al generar aún más radicales libres. La consecuencia final es que la elastina del tejido conectivo pulmonar se destruye **(Figura 12)**.

Las reacciones de los radicales libres con las proteínas también dan lugar a alteraciones estructurales en las mismas, las cuales provocan entrecruzamientos y fenómenos de agregación que pueden estar mediados por la formación de puentes disulfuro intra e intermoleculares. Cuando un compuesto que contiene un grupo sulfidrilo es oxidado por un radical libre se forma un radical tiilo ($RS^{\cdot}$) que puede interactuar con otro para formar un puente disulfuro (RSSR) **(Ecuaciones 9 y 10)**. Estas reacciones podrían explicar el efecto protector de los compuestos que contienen grupos sulfidrilo frente al ataque por radicales libres (*ver apartado 5*).

Tabla 5. ENFERMEDADES Y ALTERACIONES CLÍNICAS EN LAS QUE PUEDEN ESTAR IMPLICADOS LOS RADICALES LIBRES DE OXÍGENO

Aterosclerosis	Envejecimiento
Alcoholismo	Esclerosis múltiple
Anemia de Fanconi	Favismo
Anemia falciforme	Fibroplasia retrolental
Artritis reumatoide	Gastritis crónica autoinmune
Cáncer	Glomerulonefritis
Caratogénesis	Gota
Cirrosis	Hemocromatosis
Colitis ulcerativa	Lipofuscinosis
Daño por isquemia-reperfusión	Lupus eritematoso sistémico
Deficiencias nutricionales	Malaria
Demencia senil	*Miastenia gravis*
Dermatitis por contacto	Pancreatitis
Dermatomiositis	Porfiria
Displasia broncopulmonar	Retinitis degenerativa
Distrés respiratorio agudo	Síndrome nefrótico autoinmune
Distrofia muscular	Talasemia
Encefalomielitis alérgica	Toxicidad de xenobióticos
Enfermedad de Parkinson	Traumatismo
Enfisema pulmonar	Vasculitis autoinmune

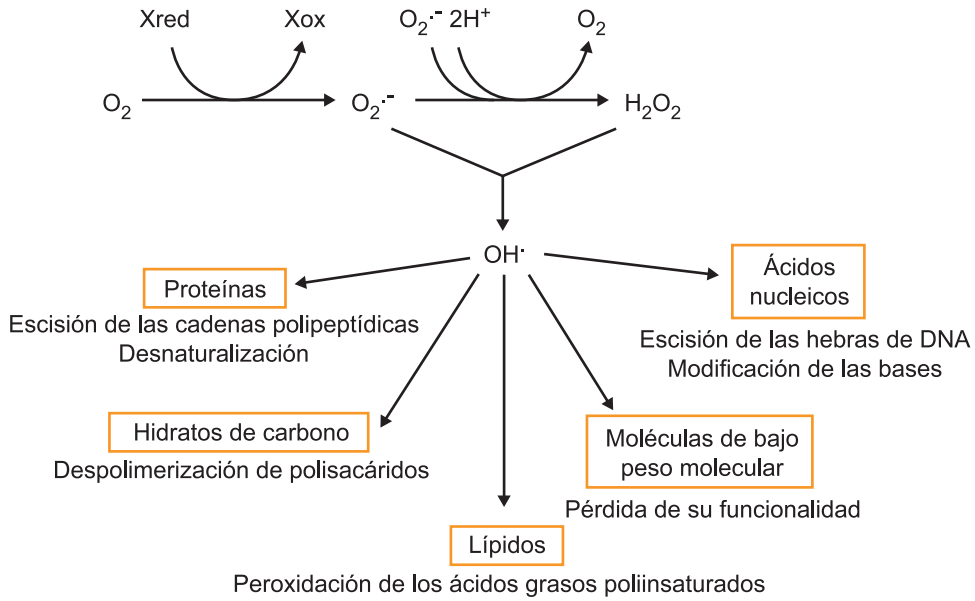


Figura 11. *Componentes celulares dañados por los radicales libres de oxígeno.*

$$RSH + A^{\cdot} \rightarrow RS^{\cdot} + AH \quad (9)$$

$$RS^{\cdot} + RS^{\cdot} \rightarrow RSSR \quad (10)$$

Los enlaces peptídicos y aminoácidos como la prolina o la lisina, que normalmente son más resistentes a las modificaciones, también pueden verse afectados por la acción de algunas especies de oxígeno altamente reactivas. La oxidación de residuos de prolina, mediada por radicales hidroxilo o superóxido, seguida de la hidrólisis de los enlaces peptídicos, es el mecanismo propuesto para explicar la escisión oxidativa y desaminación de las proteínas.

Además de oxidar aminoácidos, los radicales libres de oxígeno pueden reaccionar directamente con los ligandos metálicos de muchas metaloproteínas, modificando el estado redox de los mismos. Por ejemplo, el hierro de la hemoglobina o de la catalasa puede reaccionar con el radical superóxido y convertirse en su forma inactiva Fe^{+3}. El cobre de la superóxido dismutasa CuZn puede reaccionar con el peróxido de hidrógeno para generar radical hidroxilo, que es capaz de atacar un residuo de histidina del centro activo de la enzima.

Finalmente, las reacciones de los radicales libres de oxígeno con las proteínas también pueden generar subproductos que pueden amplificar el daño inicial. Por ejemplo, la N-formil-quinurenina, que se origina en la oxidación del triptófano, puede reaccionar con compuestos que contengan grupos amino y provocar entrecruzamientos entre lípidos y/o proteínas.

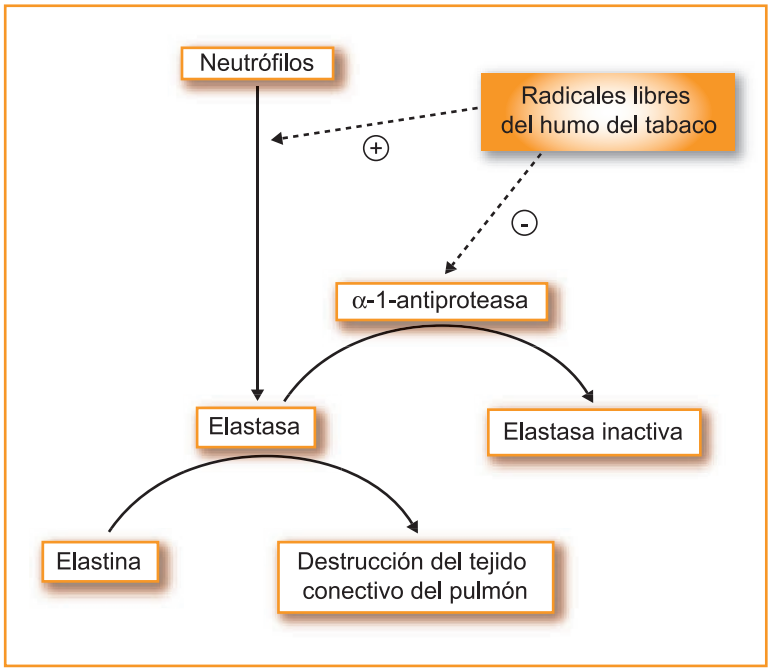


Figura 12. *Implicación de los radicales libres del humo del tabaco en el enfisema pulmonar.*

4.2. Lípidos

Aunque la reactividad de los radicales libres es variable, la mayor parte de ellos son extremadamente reactivos e inestables. Debido a su reactividad, como se ha dicho anteriormente, los radicales libres se encuentran solamente a bajas concentraciones y no viajan lejos del lugar donde se forman. No obstante, cuando un radical libre reacciona con un compuesto no radical libre, otros radicales libres pueden formarse. De este modo, es posible que se induzcan reacciones en cadena que pueden dar lugar a daños celulares lejos del lugar donde inicialmente se originó el radical. La peroxidación lipídica es un claro ejemplo de este hecho que se acaba de explicar.

Los radicales libres pueden reaccionar con los ácidos grasos poliinsaturados de los lípidos de membrana, provocando el deterioro oxidativo de los mismos. Este fenómeno, conocido como peroxidación lipídica, es iniciado por los radicales hidroxilo e hidroperoxilo, pero no por el radical superóxido.

El $O_2^{\cdot -}$ puede tener un pequeño papel en la ruptura de los hidroperóxidos que se forman **(Ecuación 11)**.

$$O_2^{\cdot -} + ROOH \rightarrow O_2 + OH^{-} + RO^{\cdot} \quad (11)$$

El proceso comienza cuando el radical libre quita un átomo de hidrógeno ($H^{\cdot}$) de un grupo metileno ($-CH_2-$) para rendir un radical libre lipídico ($L^{\cdot}$). La presencia de un doble enlace en el ácido graso debilita los enlaces C-H del átomo de carbono adyacente a ese doble enlace y, de esta manera, facilita la liberación de $H^{\cdot}$.

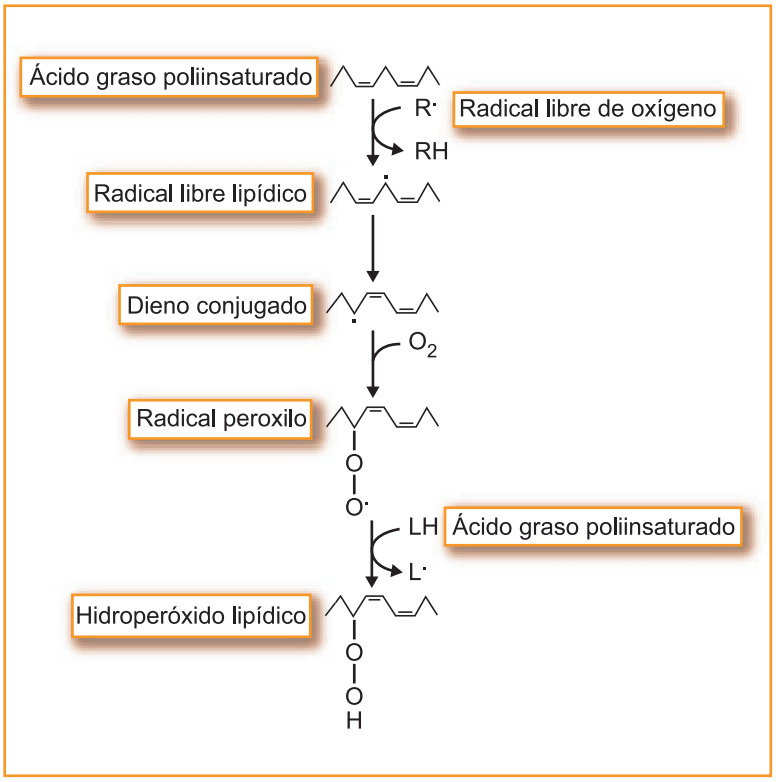


Figura 13. *Reacciones de la peroxidación lipídica.*

El radical lipídico formado tiende a estabilizarse por medio de un reajuste molecular que produce un dieno conjugado, el cual entonces reacciona con el oxígeno molecular para originar un radical peroxilo (ROO·). El radical peroxilo puede quitar un átomo de hidrógeno de otra molécula lipídica para convertirse en un hidroperóxido (ROOH) y formar un nuevo radical libre lipídico. Este radical libre lipídico puede reaccionar con otra molécula de oxígeno y así puede establecerse una cadena de propagación del daño oxidativo. Por su parte, el hidroperóxido, en presencia de metales de transición como el hierro y el cobre, puede descomponerse para dar lugar a más radicales libres que estimularán la reacción en cadena de la peroxidación lipídica. Algunos radicales peroxilo forman endoperóxidos, que pueden tener el mismo destino que los hidroperóxidos **(Figura 13)**.

Cuando en una membrana se está dando la peroxidación lipídica, los radicales libres que se forman pueden reaccionar unos con otros mediante la formación de enlaces covalentes lípido-lípido. Esos radicales libres también pueden quitar átomos de hidrógeno de las proteínas de membrana y así, los radicales aminoacídicos que se originan pueden formar puentes disulfuro y otros enlaces covalentes proteína-proteína y proteína-lípido.

Las reacciones de los hidroperóxidos con los metales de transición en estado reducido liberan frecuentemente gases como el etano, el etileno o el pentano y otros compuestos de cadena corta que pueden ejercer sus efectos dentro de la membrana que se está peroxidando y en cualquier otro sitio de la célula.

El malondialdehído, un importante indicador de la peroxidación lipídica, es un aldehído bifuncional que puede reaccionar con los grupos sulfidrilo y amino de las proteínas y producir entrecruzamiento y agregación de las mismas **(Ecuación 12)**. El malondialdehído puede también unir el grupo amino de la fosfatidiletanolamina a otras moléculas de fosfatidiletanolamina, de fosfatidilserina o a proteínas. Además, puede difundir y reaccionar con las bases nitrogenadas del DNA.

$$R_1\text{-}NH_2 + O{=}CH\text{-}CH_2\text{-}CH{=}O + H_2N\text{-}R_2 \rightarrow R_1\text{-}N{=}CH\text{-}CH{=}CH\text{-}NH\text{-}R_2 + 2H_2O \quad (12)$$

De lo anteriormente expuesto cabe deducir que los efectos perjudiciales de la peroxidación lipídica para la célula son múltiples.

La alteración de la estructura de la membrana provoca una disminución de la fluidez de la misma y la inactivación de las enzimas ligadas a ella. Una fragmentación continuada de las cadenas de los ácidos grasos puede incluso dar lugar a la completa pérdida de integridad de esa membrana.

Los ribosomas se separan del retículo endoplásmico, el transporte electrónico mitocondrial se deteriora y las mitocondrias se lisan; los lisosomas también se lisan y su contenido enzimático se vierte al citosol, y la membrana nuclear, también peroxidada, libera aldehídos de bajo peso molecular que pueden inhibir la síntesis de proteínas y tener efectos mutagénicos si reaccionan con las bases del DNA.

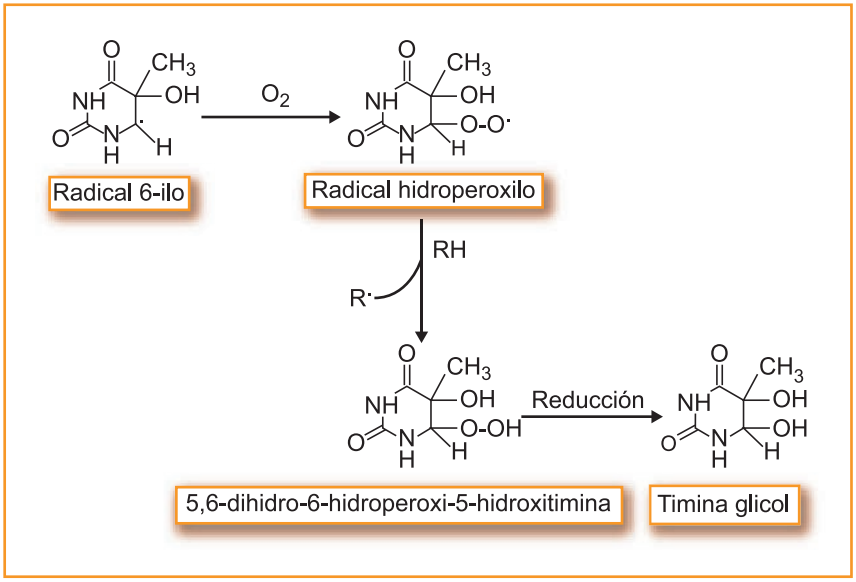


Figura 14. *Mecanismo de formación de la timina glicol en células aeróbicas.*

4.3. Ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos también pueden ser atacados por los radicales libres, fundamentalmente el radical hidroxilo. Las mutaciones y la muerte celular originadas por la generación de radicales libres durante el metabolismo normal, la hiperoxia o agentes externos pueden asociarse también a las reacciones con el DNA.

El daño causado al DNA por los radicales libres se debe a alteraciones que se producen en algunos de sus componentes, siendo los más susceptibles las pirimidinas (timina y citosina), seguidos de las purinas (adenina y guanina) y después del monosacárido (desoxirribosa). Los principales productos de la reacción del radical hidroxilo con las bases o el monosacárido del DNA son radicales libres que experimentan una amplia variedad de reacciones, siendo una de las más significativas la reacción con el oxígeno molecular para formar hidroperóxidos orgánicos, que luego pueden reducirse química o enzimáticamente para producir un alcohol. La glicol timina y la 8-hidroxiguanina son ejemplos de compuestos que se producen tras el daño oxidativo a la timina y a la guanina, repectivamente **(Figura 14)**.

La exposición del DNA al estrés oxidativo puede dar lugar a la ruptura de sus hebras, o bien generar sitios apurínicos o apirimidínicos que han de ser reparados para que el proceso de replicación no quede bloqueado. En cualquier caso, las modificaciones químicas del DNA pueden provocar reacciones de entrecruzamiento entre bases y/o azúcares de la misma cadena de DNA o de la complementaria, dando lugar a diferentes aberraciones cromosómicas que causan citotoxicidad.

Se ha demostrado que el estrés oxidativo también puede provocar la ruptura de hebras sencillas o dobles del DNA mediante la activación de endonucleasas dependientes de Ca^{2+}.

La mitocondria, como se ha indicado anteriormente, es la principal fuente de radicales libres superóxido y de peróxido de hidrógeno en los mamíferos, de ahí que sus componentes estén expuestos a un flujo constante de estas especies químicas. El peróxido de hidrógeno generado durante la oxidación de ciertas aminas por la monoamina oxidasa de la membrana externa mitocondrial parece también contribuir a las reacciones oxidativas de la matriz mitocondrial, ya que puede difundir fácilmente. El DNA mitocondrial está cercano a los sitios de producción de radicales libres de oxígeno y carece de las histonas que están asociadas al DNA nuclear; por lo tanto, es un blanco muy sensible al ataque por los radicales de oxígeno.

4.4. Hidratos de carbono

Los hidratos de carbono también son blancos de los radicales libres de oxígeno. Monosacáridos como la glucosa, el manitol, los desoxiazúcares y también ciertos nucleótidos pueden fácilmente reaccionar con los radicales hidroxilo para producir nuevos radicales libres altamente reactivos. La glicosilación de las proteínas, por tanto, las hace más susceptibles a la oxidación por radicales libres.

Los radicales libres también pueden reaccionar con polímeros de hidratos de carbono, induciendo normalmente su fragmentación. El ácido hialurónico es un glicosaminoglicano que está constituido por unidades repetidas de ácido glucurónico y

N-acetilglucosamina y cuya función es mantener la viscosidad del líquido sinovial de las articulaciones. Cuando el ácido hialurónico se expone a sistemas generadores de radicales libres de oxígeno, se despolimeriza y, consecuentemente, pierde sus propiedades como lubricante.

En este sentido, se ha postulado que los pacientes con artritis reumatoide, una enfermedad caracterizada por una inflamación crónica de las articulaciones, poseen un factor reumatoide que es capaz de unirse a la inmunoglobulina G cuando ésta se modifica por la exposición a radicales libres de oxígeno. Los complejos que se forman en el líquido sinovial y en el suero estimulan la generación de más radicales libres por los neutrófilos, como resultado de lo cual el ácido hialurónico se despolimeriza. Por otra parte, la matriz del cartílago, que también es susceptible al ataque por radicales libres de oxígeno, puede degradarse y provocar una sobreactivación de los fagocitos con la consiguiente sobreproducción de radicales libres.

5. Sistemas de defensa antioxidante

Para contrarrestar el efecto pernicioso de los radicales libres de oxígeno existen en los sistemas biológicos una gran diversidad de sustancias, de naturaleza enzimática y no enzimática, que constituyen los denominados sistemas de defensa antioxidante **(Figura 15)**. Estos sistemas de defensa antioxidante funcionan muy eficientemente de forma coordinada y su misión es proteger la homeostasis celular frente a la disrupción oxidativa causada por radicales libres y otras especies reactivas originadas durante el metabolismo del oxígeno.

Dentro de los sistemas de defensa antioxidante se puede hablar de sistemas de defensa antioxidante primarios o preventivos y sistemas de defensa antioxidante secundarios o rompedores de cadena. Las defensas primarias interactúan con los radicales libres generados directamente del O_2 y, de esta manera, disminuyen la velocidad de inicio de las reacciones de los radicales libres. Por su parte, las defensas secundarias atrapan los radicales propagadores, deteniendo su efecto nocivo en las etapas iniciales.

5.1. Sistemas de defensa antioxidante primarios

5.1.1. Enzimas

Existen diversas enzimas cuya función primaria es disminuir las concentraciones intra e intercelulares de las especies reactivas de oxígeno. Entre ellas se encuentran las superóxido dismutasas, la catalasa, la glutatión peroxidasa, la glutatión reductasa, la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y otras. La **Figura 16** resume la acción concertada de estas enzimas intracelulares.

5.1.1.1. Superóxido dismutasas (SOD)

Las superóxido dismutasas son una familia de metaloenzimas que catalizan la dismutación del $O_2^{\cdot -}$ para producir H_2O_2 y O_2. Su función catalítica fue descubierta por McCord y Fridovich. La velocidad de dismutación es 10^4 veces superior que la dismutación espontánea que se produce a pH fisiológico **(Ecuación 3)**. Estas enzimas tienen una variedad de grupos prostéticos y se clasifican en función de éstos.

La forma isoenzimática prevalente de las SODs es la CuZnSOD, una proteína dimérica de 32 kDa que se ha encontrado en casi todas las células eucarióticas. El átomo de cobre es esencial para la actividad catalítica de la enzima, mientras que el átomo de zinc le proporciona estabilidad. Esta proteína se ha encontrado mayoritariamente en el citosol de las células eucarióticas, aunque también puede estar presente en el núcleo.

Otra CuZnSOD se ha encontrado en los fluidos extracelulares. En este caso se trata de una proteína de 135 kDa constituida por cuatro subunidades unidas no covalentemente.

Además de las anteriores, se ha identificado una superóxido dismutasa que contiene manganeso. Ésta es una proteína tetramérica de subunidades idénticas, que posee un peso molecular de 88 kDa. La MnSOD está localizada preferentemente en la mitocondria protegiendo a este orgánulo de los $O_2^{\cdot -}$ producidos durante el transporte electrónico mitocondrial. En algunas especies animales se ha encontrado una MnSOD en el citosol de las células hepáticas.

Finalmente, una superóxido dismutasa que contiene hierro (FeSOD) ha sido aislada en bacterias aerobias y plantas, pero no en animales.

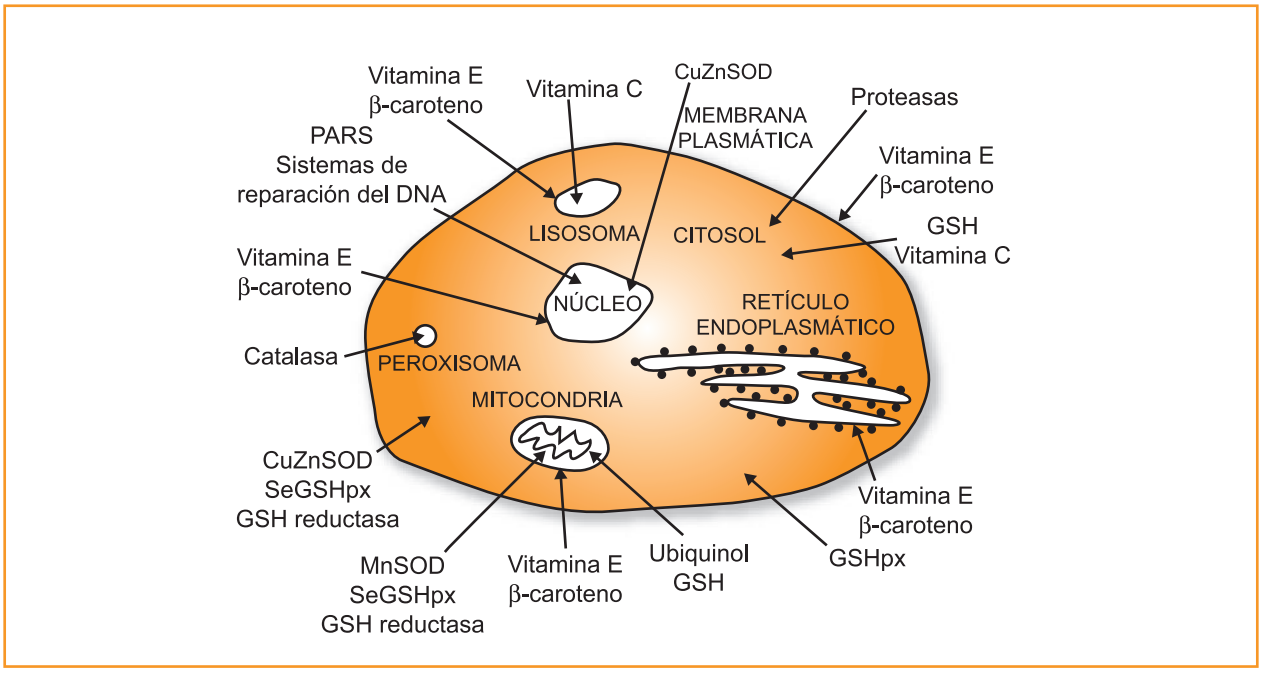


Figura 15. *Sistemas de defensa antioxidante intracelulares. CuZnSOD: CuZn superóxido dismutasa; GSH: glutatión; GSH reductasa: glutatión reductasa; GSHpx: glutatión peroxidasa; MnSOD: Mn superóxido dismutasa; PARS: poli(ADP-ribosa) sintetasa; SeGSHpx: glutatión peroxidasa dependiente de selenio.*

La actividad de las SODs varía entre los tejidos. En general, los niveles más altos se han encontrado en hígado, glándulas adrenales, riñón y bazo. Estas enzimas se regulan en función de la oxigenación de los tejidos donde se encuentran, la cual afecta a la síntesis de la proteína. La inducción de las SODs también ocurre cuando hay una sobreproducción de $O_2^{\cdot -}$.

Un exceso de SOD que no vaya acompañado por la actividad de la catalasa puede ser perjudicial para el organismo, puesto que el peróxido de hidrógeno se acumula. El gen humano que codifica la CuZnSOD se encuentra en el cromosoma 21; por lo tanto, los individuos que tienen el síndrome de Down, con trisomía de este cromosoma, presentan una sobreproducción de peróxido de hidrógeno, a partir del cual se puede formar el radical hidroxilo que resulta extremadamente nocivo.

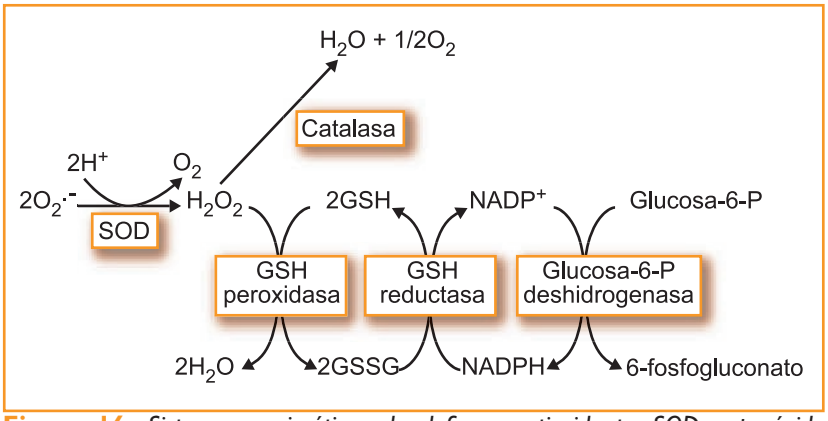


Figura 16. *Sistemas enzimáticos de defensa antioxidante. SOD: superóxido dismutasa; GSH: glutatión; GSSG: glutatión oxidado.*

5.1.1.2. Catalasa

La catalasa es una hemoproteína que cataliza la reducción del H_2O_2 a H_2O y O_2 **(Ecuación 13)**.

$$\mathbf{2\ H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2} \qquad (13)$$

Esta enzima tiene constantes de velocidad relativamente elevadas, pero su afinidad es baja; de ahí

que su papel resulte fundamental a elevadas concentraciones de peróxido de hidrógeno. Tiene un peso molecular de 240 kDa y está constituida por cuatro subunidades, cada una de las cuales contiene un grupo hemo como parte de su centro activo.

La mayor parte de las células contienen catalasa, aunque en los animales abunda en el hígado, riñón y en los eritrocitos. En cuanto a su localización subcelular, la actividad catalasa de las células eucarióticas se localiza fundamentalmente en los peroxisomas, orgánulos que, por otra parte, contienen muchas de las enzimas generadoras de H_2O_2 de las células aeróbicas.

5.1.1.3. Glutatión peroxidasa dependiente de selenio (SeGSHpx)

Esta proteína es un miembro de la familia de las peroxidasas que cataliza la reducción del H_2O_2 y de hidroperóxidos orgánicos empleando el glutatión (GSH) como cosustrato **(Ecuaciones 14 y 15)**.

$$\mathbf{H_2O_2 + 2\ GSH \rightarrow GSSG + 2\ H_2O} \quad (14)$$

$$\mathbf{ROOH + 2\ GSH \rightarrow GSSG + ROH + H_2O} \quad (15)$$

La SeGSHpx es una proteína tetramérica de peso molecular 85 kDa que contiene cuatro átomos de selenio, unidos como selenocisteína, los cuales le confieren actividad catalítica. A diferencia de la catalasa, la SeGSHpx tiene una elevada afinidad por su sustrato pero baja actividad catalítica. Esta enzima está localizada fundamentalmente en el citosol de las células eucarióticas, aunque también puede encontrarse en las mitocondrias.

En cuanto a su distribución en los tejidos humanos, hay una gran heterogeneidad, aunque la actividad más alta se encuentra en el hígado. Esta enzima se regula por una variedad de estímulos ambientales, especialmente el suplemento de selenio en la dieta.

5.1.1.4. Glutatión reductasa

La SeGSHpx tiene un requerimiento absoluto de GSH para funcionar. La principal enzima responsable de mantener elevada la relación GSH/GSSG es la glutatión reductasa. Esta enzima cataliza la reducción del glutatión oxidado utilizando equivalentes redox en forma de NADPH **(Ecuación 16)**. Otros disulfuros también pueden ser reducidos por la glutatión reductasa.

$$\mathbf{GSSG + NADPH + H^+ \rightarrow 2\ GSH + NADP^+} \quad (16)$$

Esta proteína enzimática, de peso molecular 120 kDa, contiene dos subunidades, cada una de ellas con un grupo FAD en su centro activo. Su localización es citosólica y mitocondrial.

La distribución tisular de la glutatión reductasa es similar a la de la SeGSHpx.

5.1.1.5. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa

Las actividades de la SeGSHpx y glutatión reductasa están acopladas a la producción de NADPH por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en la ruta de las pentosas fosfato **(Ecuación 17)** (*ver Capítulo 2.8*).

$$\mathbf{Glucosa\text{-}6\text{-}fosfato + NADP^+ \rightarrow 6\text{-}fosfogluconolactona + NADPH + H^+} \quad (17)$$

La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa humana de eritrocitos existe en equilibrio entre el tetrámero de 210 kDa y el dímero de 105 kDa. Esta enzima se inhibe en presencia de quelantes de metales.

5.1.1.6. Otras enzimas

Existen diversas peroxidasas que han sido identificadas en distintos sistemas biológicos y que tienen afinidad por el H_2O_2. Estas enzimas pueden tener un efecto protector antioxidante en tejidos carentes de catalasa y/o GSHpx. No obstante, su efecto protector es limitado, porque muchas de ellas son capaces de transformar determinados xenobióticos en prooxidantes.

Las enzimas que previenen la formación y/o el metabolismo de especies prooxidantes por ellas mismas pueden jugar un papel importante en la defensa antioxidante de los sistemas biológicos. Un ejemplo lo constituye la NADPH:quinona óxidoreductasa (DT-diaforasa) que cataliza la reducción divalente de muchas quinonas utilizando NADH o NADPH como dador electrónico y originando hidroquinonas estables, que pueden sufrir reacciones de conjugación para ser eliminadas. Igualmente, las

epóxido hidrolasas, que se encuentran en distintos tipos celulares, también constituyen un sistema de defensa antioxidante primario, puesto que son capaces de reaccionar con diferentes especies epóxido producidas durante la peroxidación lipídica.

5.1.2. Secuestradores no enzimáticos

Además de las enzimas descritas anteriormente, existe otra línea de defensa antioxidante que funciona sin intervención enzimática secuestrando los radicales libres que escapan de las enzimas antioxidantes. Dentro de este grupo de secuestradores no enzimáticos se encuentran diversas proteínas y moléculas de bajo peso molecular como el glutatión, la vitamina C, el ácido úrico o la taurina **(Figura 17)**.

5.1.2.1. Proteínas

Los metales de transición, como el hierro o el cobre, están implicados en la generación de radicales libres hidroxilo mediante reacciones como la de Fenton o la de Haber-Weiss **(Ecuaciones 6 y 7, respectivamente)**. Asimismo, participan en reacciones con radicales libres en las que convierten especies poco reactivas en otras con mayor reactividad. Ahora bien, cuando estos metales están ligados a proteínas, difícilmente pueden llevar a cabo esta catálisis. Existen distintas proteínas que son capaces de unirse a metales y que, por tanto, reducen los niveles de iones metálicos libres; estas proteínas también se consideran mecanismos de defensa antioxidante.

La ferritina y la transferrina son proteínas que se encargan de mantener bajas las concentraciones de hierro intra y extracelulares. La ferritina está implicada en el almacenamiento intracelular del hierro y posee 24 subunidades con un peso molecular cada una de ellas de 18,5 kDa. Esta proteína es capaz de almacenar hasta 4.500 átomos de hierro, que se localizan en la cavidad interna que resulta de la asociación de las distintas subunidades. La capacidad antioxidante de la ferritina depende del grado de saturación con hierro que presente, de manera que, cuando está parcialmente saturada actúa como un potente antioxidante en el plasma al secuestrar el hierro del mismo, y cuando está totalmente saturada puede liberarlo, convirtiéndose en un prooxidante. La transferrina es una glicoproteína de 80 kDa que transporta hierro en el plasma. Cada molécula de transferrina puede ligar hasta 2 átomos/g de hierro. Al igual que la ferritina, esta proteína puede funcionar como un prooxidante cuando está totalmente cargada de hierro.

La ceruloplasmina y la albúmina transportan cobre en el plasma y previenen la descomposición de los hidroperóxidos a radicales libres. La primera es una proteína de 130 kDa que puede transportar hasta 6 o 7 iones cobre por molécula. La ceruloplasmina, además, es capaz de oxidar el Fe^{2+} a Fe^{3+}, evitando, de este modo, que el Fe^{2+} pueda catalizar reacciones generadoras de radicales libres. La albúmina es una proteína pequeña con un peso molecular de 69 kDa y entre sus funciones se encuentra la regulación de la presión osmótica y el transporte de distintos tipos de moléculas en plasma. Se ha demostrado que esta proteína, a concentraciones inferiores a las fisiológicas, es capaz de inhibir la peroxidación lipídica estimulada por cobre. La albúmina inhibe la generación de radicales hidroxilo en sistemas que contienen iones cobre y H_2O_2, y es capaz de secuestrar esos radicales hidroxilo y los peroxilo. Asimismo, puede unirse a los ácidos grasos libres protegiéndolos de la peroxidación; sin embargo, en este caso, su efecto sobre la peroxidación estimulada por hierro es mínimo.

5.1.2.2. Glutatión

El tripéptido glutatión (GSH), γ-glutamil-cisteinil-glicina, constituye el tiol de bajo peso molecular más abundante de las células de los mamíferos, pudiendo alcanzar concentraciones de hasta 10 mM. La acumulación de esta molécula, en parte, es debida al enlace peptídico γ-glutamilo que es insensible a la mayoría de las peptidasas normales. Los fluidos corporales, como la bilis, el filtrado glomerular, el plasma sanguíneo y la cubierta de las células epiteliales, también contienen GSH.

El glutatión puede reaccionar con los radicales libres de oxígeno de diferentes maneras. Primero, mediante la acción de la glutatión peroxidasa puede reducir especies como el H_2O_2 u otros peróxidos orgánicos oxidándose a GSSG **(Ecuaciones 14 y 15)**. Segundo, puede reaccionar directamente con radicales libres como el $O_2^{\cdot -}$, $OH^{\cdot}$, y $RO^{\cdot}$, donando un átomo de hidrógeno y formando un radical tiilo, que posteriormente se puede transformar en GSSG. Tercero, puede reaccionar con electrófilos

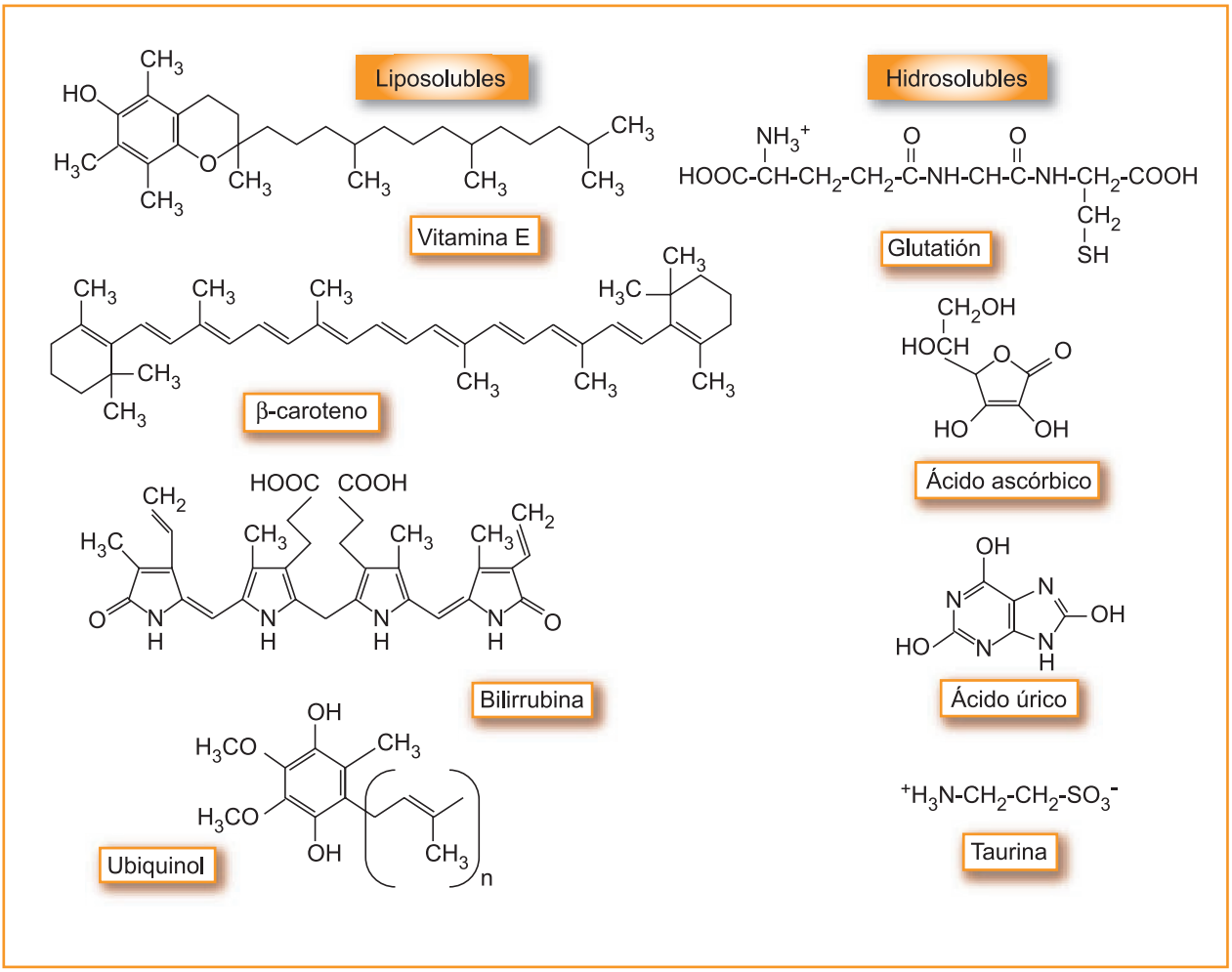


Figura 17. *Estructuras de antioxidantes liposolubles e hidrosolubles.*

para formar aductos covalentes mediante reacciones catalizadas por las glutatión transferasas.

Al igual que ocurre con otras defensas antioxidantes, los niveles de GSH fluctúan en diversas condiciones fisiológicas. Se ha comprobado que con la edad la concentración de GSH disminuye. Las causas pueden ser un incremento de su tasa de oxidación o una disminución en el recambio de GSH debido a una mayor utilización o degradación y/o una menor biosíntesis. La pérdida del GSH y de otros tioles celulares favorece la peroxidación lipídica y la lesión celular; de ahí que muchos investigadores propongan mantener un elevado cociente GSH/GSSG para prevenir los efectos nocivos del agotamiento de glutatión.

La inhibición de la peroxidación lipídica por el GSH parece estar relacionada con la regeneración de la vitamina E en la que está implicado **(Ecuación 18)** (*ver apartado 5.2.2.1, "Vitamina E"*). En la reacción se produce un radical tiilo, que se puede combinar con otro radical tiilo para formar GSSG, el cual se puede reducir hasta GSH por la glutatión reductasa **(Ecuaciones 19 y 16, respectivamente)**.

Vitamina E· + GSH → vitamina E + GS· (18)

2 GS· → GSSG (19)

Además del GSH, otros tioles con propiedades antioxidantes han sido utilizados en terapia y medicina preventiva para proteger las células del daño oxidativo: entre éstos se encuentran el dihidrolipoato, la N-acetilcisteína, la mercaptopropionilglicina, la penicilamina y el captoprilo.

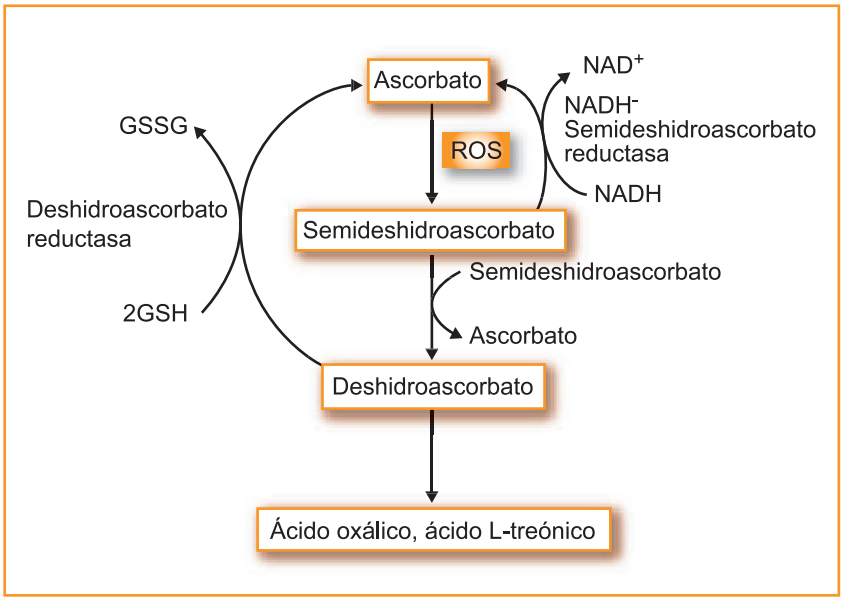


Figura 18. *Oxidación del ascorbato por especies reactivas de oxígeno, regeneración y descomposición. ROS: especies reactivas de oxígeno.*

5.1.2.3. Vitamina C

La vitamina C o ácido ascórbico es una molécula que se ha encontrado intra y extracelularmente en la mayor parte de los sistemas biológicos. En el plasma es el antioxidante hidrosoluble que ejerce un mayor efecto protector frente a la peroxidación lipídica. Debido a que el pK del ácido ascórbico es 4,25, el anión ascorbato (AH^-) es la forma predominante que existe a pH fisiológico. El papel antioxidante del anión ascorbato radica en su capacidad para reaccionar directamente con el radical superóxido, el radical hidroxilo y diversos hidroperóxidos lipídicos. Cuando el ascorbato reduce estos radicales libres, se convierte en deshidroascorbato (A) a través de la formación de un intermediario radical libre, el semideshidroascorbato ($A^{\cdot -}$) **(Figura 18)**. El deshidroascorbato es una molécula inestable y se puede romper en una ruta compleja que lleva a la producción de los ácidos oxálico y L-treónico.

No obstante, el ácido ascórbico se puede regenerar y lo hace a partir del deshidroascorbato por la deshidroascorbato reductasa que utiliza glutatión reducido, oxidándolo a GSSG, o bien, a partir del semideshidroascorbato por la NADH-semideshidroascorbato reductasa que oxida el NADH a NAD^+. Se cree que el semideshidroascorbato también puede reducirse por el glutatión hasta ascorbato, originando un radical tiilo **(Ecuación 20)**.

$$\mathbf{A^{\cdot -} + GSH \rightarrow AH^- + GS^{\cdot}} \quad (20)$$

Otra función importante de la vitamina C es la de restaurar las propiedades antioxidantes de la vitamina E. En este caso, el ascorbato se oxida al reducir los radicales tocoferilos (vitamina $E^{\cdot}$) originados en las reacciones de la vitamina E con los radicales libres **(Ecuación 21)** (*ver apartado 5.2.2.1, "Vitamina E"*).

$$\mathbf{Vitamina\ E^{\cdot} + AH^- \rightarrow vitamina\ E + A^{\cdot -}} \quad (21)$$

El ascorbato, en determinadas condiciones, también puede funcionar como prooxidante. A altas concentraciones ($\simeq$ 1 mM) y en presencia de metales de transición, este antioxidante puede inducir la generación de radicales libres de oxígeno por su capacidad para reducir los iones metálicos que están implicados en las reacciones de formación de radicales hidroxilo (*ver Capítulo 2.19*).

5.1.2.4. Ácido úrico

El ácido úrico es producido en las células animales durante el catabolismo de las bases púricas. Este compuesto puede funcionar como un antioxidante puesto que, a concentraciones a las que se encuentra normalmente en el plasma, es capaz de interaccionar directamente con radicales libres de oxígeno como el $OH^{\cdot}$. El ácido úrico, además, puede acomplejar metales de transición como el hierro o cobre y, de esta forma, preservar el ascorbato del plasma.

5.1.2.5. Taurina

Este β-aminoácido se encuentra en la mayoría de las células eucarióticas y, extracelularmen-

te, en distintos fluidos corporales. Puesto que no puede formar parte de las proteínas, se acumula en el interior de las células, donde alcanza altas concentraciones. La taurina forma parte de algunos ácidos biliares y también tiene una función importante en las reacciones de conjugación para la eliminación de distintos xenobióticos. Asimismo, se ha demostrado su papel como antioxidante, ya que puede reaccionar directamente con distintas especies reactivas de oxígeno convirtiéndolas en formas menos reactivas.

5.2. Sistemas de defensa antioxidante secundarios

5.2.1. Enzimas

Los sistemas de defensa antioxidante descritos anteriormente no siempre son efectivos al 100%, y los componentes intracelulares sufren daños oxidativos. Las células disponen de otra serie de enzimas que son capaces de reparar y/o eliminar los productos que resultan del daño a proteínas, lípidos y DNA. Estos sistemas enzimáticos de reparación se describen a continuación.

5.2.1.1. Oxidorreductasas específicas de proteínas

Existen diversas enzimas que catalizan reacciones redox de los grupos sulfidrilo de las proteínas, entre las que se encuentran las que reducen los puentes disulfuro. Estas últimas podrían contribuir a la defensa antioxidante de las células, puesto que funcionarían reduciendo los puentes disulfuros mixtos formados por la acción de los radicales libres de oxígeno. Entre estas enzimas se encuentra la pareja tiorredoxina-tiorredoxina reductasa y la glutarredoxina.

5.2.1.2. Proteasas

Las enzimas proteolíticas pueden actuar como sistemas de defensa secundarios, porque son capaces de degradar muchas proteínas modificadas y dañadas oxidativamente y, de esta manera, previenen su acumulación en las células. Se ha demostrado que tanto los procariotas como los eucariotas muestran un incremento de la susceptibilidad proteolítica cuando sufren estrés oxidativo.

La macroxiproteinasa (MOP) es un complejo proteico de elevado peso molecular que está implicado en la degradación no lisosomal e independiente de ATP/ubiquitina de las proteínas modificadas por oxidación. Parece ser que la desnaturalización provocada por las modificaciones oxidativas de las proteínas podría representar una señal para la proteólisis intracelular de las mismas. En las proteínas no dañadas los restos hidrofóbicos se sitúan hacia el interior de su estructura tridimensional; sin embargo, durante las modificaciones oxidativas la desnaturalización parcial de esas proteínas puede dar lugar a la exposición de esos residuos hacia el exterior de las proteínas, incrementando, de ese modo, su hidrofobicidad. Esa conformación proporciona enlaces peptídicos muy susceptibles de ser hidrolizados por la MOP.

El proteasoma es otro gran complejo proteico que aparece en las células eucarióticas y que está constituido por distintas subunidades proteolíticas. Su componente central está formado por varias subunidades catalíticas dispuestas en forma de cilindro, que son las responsables de la ruptura proteolítica de las proteínas marcadas con ubiquitina. Durante la proteólisis se liberan fragmentos peptídicos y las unidades de ubiquitina que pueden ser reutilizadas (*ver Capítulo 2.5*). Por su parte, los componentes laterales del proteasoma presentan actividad ATPasa y son los que reconocen específicamente los conjugados de proteína-ubiquitina. Aunque el papel preciso del proteasoma en la degradación de proteínas oxidadas no es del todo conocido, se cree que podría estar relacionado con el de la macroxiproteinasa. El proteasoma, por tanto, podría formar parte de los sistemas de defensa responsables de la degradación y eliminación de las proteínas dañadas de forma irreversible por oxidación.

5.2.1.3. Glutatión peroxidasa no dependiente de selenio (GSHpx)

De todas las peroxidasas implicadas en el metabolismo de los hidroperóxidos lipídicos, la glutatión peroxidasa (GSHpx) es la principal responsable de la reducción de los hidroperóxidos reactivos hasta sus correspondientes alcoholes. Esta enzima citosólica, a diferencia de la SeGSHpx, no es dependiente de selenio, no metaboliza el H_2O_2 y sólo muestra especificidad por los hidroperóxidos orgánicos de ba-

jo peso molecular. La GSHpx muestra baja actividad frente a los hidroperóxidos que están embebidos en las membranas; por lo tanto, su efecto protector antioxidante depende de la liberación de estos hidroperóxidos de las correspondientes membranas donde se encuentran. Se ha propuesto que la fosfolipasa A_2 facilita la actividad de la GSHpx porque libera los ácidos grasos peroxidados de los fosfolípidos de la membrana.

Además de esta GSHpx, se ha descubierto en mamíferos otra peroxidasa que cataliza la reducción directa de los hidroperóxidos lipídicos sin la intervención de la fosfolipasa A_2. Se trata de una proteína pequeña de 23 kDa, que contiene selenio y que se denomina fosfolípido hidroperóxido glutatión peroxidasa.

5.2.1.4. Fosfolipasas

La fosfolipasa A_2 es la principal enzima responsable de la eliminación de los ácidos grasos dañados oxidativamente en la membrana. Existen diversas formas isoenzimáticas de la fosfolipasa A_2 y, todas ellas, desempeñan un papel crucial en el metabolismo y recambio de los fosfolípidos de membrana. La actividad de la fosfolipasa A_2 resulta esencial para las reacciones de acilación-desacilación implicadas en la síntesis *de novo* de especies fosfolipídicas específicas. Esta fosfolipasa presenta una alta especificidad sobre los fosfolípidos oxidados y, posiblemente, funciona en respuesta a alteraciones que se producen en la membrana. Mediante las reacciones de transacilación que cataliza, se puede ajustar la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana y, de este modo, regular la fluidez de la misma.

Otra fosfolipasa, la fosfolipasa C, también muestra una alta actividad sobre los sustratos oxidados. La actuación secuencial de esta fosfolipasa y la diacilglicerol lipasa podría también estar implicada en la reestructuración de la membrana tras el daño oxidativo.

5.2.1.5. Sistemas de reparación del DNA

Las enzimas implicadas en la reparación del DNA pueden considerarse sistemas de defensa antioxidante porque previenen la hidrólisis del DNA estimulada por el daño oxidativo causado por los radicales libres de oxígeno.

La mayor parte de los datos que existen sobre la reparación del DNA dañado oxidativamente se han obtenido en estudios realizados en procariotas. En los microorganismos se han identificado endonucleasas AP que son capaces de reconocer y cortar sitios apurínicos, proporcionando, de esta manera, sustratos para la DNA polimerasa I y la DNA ligasa. La DNA polimerasa I realiza la síntesis del nuevo trozo de DNA utilizando como cebador el extremo 3' de la hebra escindida y como molde la hebra complementaria. Por su parte, la DNA ligasa une el fragmento del DNA recién sintetizado con la región original de la cadena de DNA.

Algunas exonucleasas son también capaces de quitar fragmentos de nucleótidos desde el extremo 3' en las rupturas de las hebras del DNA, permitiendo la reparación del DNA por la DNA polimerasa I y la DNA ligasa.

Con respecto a eucariotas, algunas actividades endonucleasas AP o glicosidasas han sido descritas; sin embargo, el papel concreto de estas enzimas en la reparación del DNA dañado oxidativamente aún no está claro.

En cualquier caso, el hecho de que todas estas proteínas se encuentren tanto en células eucarióticas como procarióticas sugiere que los mecanismos de reparación del DNA son tan críticos para las células que se han conservado a lo largo de la evolución.

5.2.1.6. Poli(ADP-ribosa) sintetasa (PARS)

La poli(ADP-ribosa) sintetasa, también llamada poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP) o poli(ADP-ribosa) transferasa (pADPRT) es una enzima nuclear que polimeriza nucleótidos y modifica las proteínas. Esta enzima contiene un dominio amino terminal de unión al DNA, un dominio central de automodificación y un dominio carboxilo terminal catalítico implicado en la síntesis de polímeros de ADP-ribosa.

La PARS se activa por la ruptura de una o ambas hebras del DNA duplohelicoidal, y funciona construyendo homopolímeros de unidades de ribosa adenosina difosfato utilizando como sustrato el NAD^+ (nicotinamida adenina dinucleótido) o el $NADP^+$(nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) (*ver Capítulo 1.21, apartado 5.2.1*). Los aceptores de la poli(ADP-ribosa) pueden ser las histonas, las topoisomerasas I y II, las DNA polimerasas, la DNA

ligasa e incluso la propia PARS. La poli-ADP ribosilación puede inhibir la actividad de muchas de estas proteínas y, en el caso de las histonas, estimular la relajación de la cromatina.

Durante el estrés oxidativo, el glutatión se emplea para eliminar distintos radicales de oxígeno y peróxidos orgánicos. En esta situación, los niveles de nucleótidos oxidados de piridina aumentan. Puesto que estos nucleótidos son los sustratos de la poli(ADP-ribosa) sintetasa, cuando esta enzima se activa, se produce una rápida poli-ADP-ribosilación de las proteínas que provoca un descenso de los niveles de NAD^+, se enlentece la glucólisis, el transporte electrónico mitocondrial y, por tanto, la formación de ATP, procesos todos ellos que, entre otros, son necesarios para regenerar el NAD^+ **(Figura 19)**.

De este modo, se puede producir una disfunción celular y, en la mayor parte de los casos, la muerte de las células.

Es posible que la poli-ADP-ribosilación de las proteínas cromosómicas esté implicada en la modulación de la expresión génica; de esta manera, la PARS podría regular procesos como la diferenciación celular, la división celular y la replicación del DNA, así como la apoptosis. En este sentido, la inhibición farmacológica de la PARS podría ser una terapia para limitar el daño celular de diferentes condiciones patológicas asociadas con una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno.

Aunque el daño al DNA normalmente se repara, durante un estado prooxidante prolongado, pequeñas lesiones del DNA se pueden acumular y causar cambios permanentes. Cuando el daño al DNA es demasiado grande para ser reparado, las células han de eliminarse. La citotoxicidad, en esta situación puede ser iniciada por la PARS. En este sentido, la PARS puede ser considerada un sistema de defensa antioxidante.

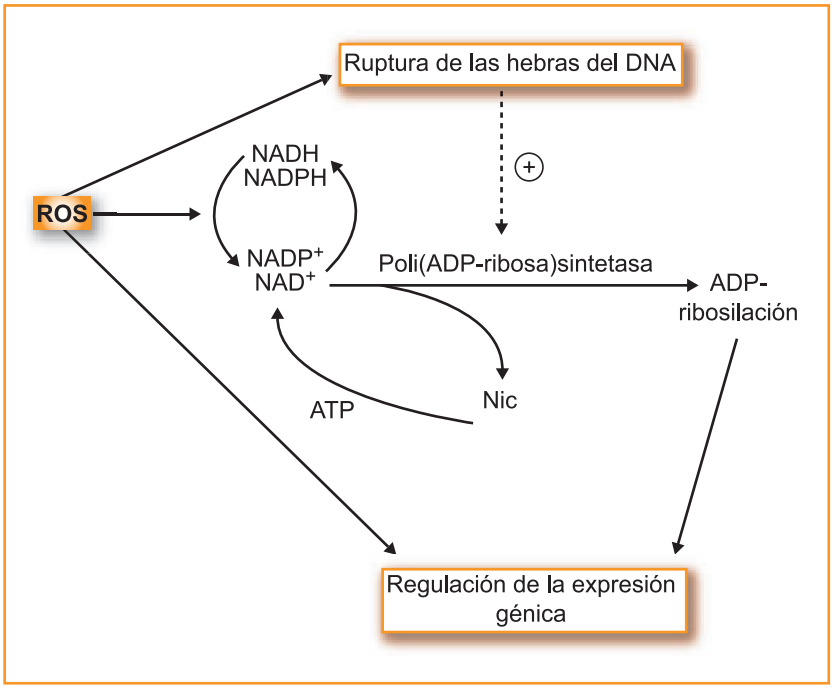


Figura 19. *Implicación de las especies reactivas de oxígeno en la regulación de la expresión génica mediada por la poli(ADP-ribosa) sintetasa. Nic: nicotinamida; ROS: especies reactivas de oxígeno.*

5.2.2. Secuestradores no enzimáticos

Existen diversas moléculas pequeñas que son capaces de reaccionar no enzimáticamente con intermediarios radicales libres. Entre esas moléculas se encuentran la vitamina E, distintos carotenoides, el ubiquinol o la bilirrubina **(Figura 17)**.

5.2.2.1. Vitamina E

El término genérico de vitamina E se refiere a un conjunto de compuestos estrechamente relacionados entre sí, denominados tocoferoles. De entre todos éstos, el que posee una mayor actividad antioxidante es el α-tocoferol. La vitamina E se ha encontrado en las membranas de la mayoría de las células y en mamíferos es especialmente abundante en hígado, corazón, glándulas adrenales y testículos. También hay vitamina E en algunos fluidos corporales como el plasma sanguíneo.

Debido a su carácter lipofílico, la molécula de tocoferol es capaz de reaccionar con especies reactivas de oxígeno como los radicales peroxilo, convirtiéndolos en hidroperóxidos lipídicos mediante la donación de

un átomo de hidrógeno **(Ecuación 22)**. Los hidroperóxidos que se forman posteriormente pueden ser eliminados por la acción conjunta de las GSH peroxidasas y las fosfolipasas antes descritas. De esta manera la vitamina E interrumpe los procesos de reacción en cadena que propagan la peroxidación lipídica.

Vitamina E + ROO$^{\cdot}$ → vitamina E$^{\cdot}$ + ROOH (22)

El radical tocoferoxilo (vitamina E$^{\cdot}$) que se origina puede reaccionar con otro radical peroxilo para formar un aducto estable **(Ecuación 23)** o bien puede reducirse por la pareja redox ascorbato-GSH presente en el citosol de las células **(Ecuaciones 18 y 21)**.

Vitamina E$^{\cdot}$ + ROO$^{\cdot}$ → ROO-vitamina E (23)

Una revisión más detallada de las funciones de la vitamina E se encuentra en el Capítulo 1.20.

5.2.2.2. Carotenoides

La mayor parte de estos polienos conjugados poseen actividad antioxidante. El β-caroteno, que es un precursor de la vitamina A, se encuentra en elevadas concentraciones en las membranas de distintos tejidos. Este carotenoide, además de secuestrar oxígenos singlete, es capaz de reaccionar con los radicales peroxilo que se generan durante la peroxidación lipídica para formar radicales centrados en el carbono de resonancia estable que, a su vez, pueden reaccionar con otros radicales peroxilo para formar un compuesto no radical libre **(Ecuaciones 24 y 25)**. De esta manera, y al igual que la vitamina E, el β-caroteno funciona como un inhibidor de la propagación de la lipoperoxidación de las membranas. Estas reacciones se dan más fácilmente a bajas concentraciones de oxígeno y complementan la acción de la vitamina E, que reacciona más eficientemente a altas concentraciones de oxígeno.

β-caroteno + ROO$^{\cdot}$ → ROO-β-caroteno$^{\cdot}$ (24)

ROO-β-caroteno$^{\cdot}$ + ROO$^{\cdot}$ → ROO-β-caroteno-OOR (25)

Una sola molécula de β-caroteno puede reaccionar con muchos radicales peroxilo y formar distintos tipos de radicales centrados en el carbono, que luego quedan bloqueados al interaccionar con otros radicales peroxilo.

El β-caroteno, al igual que la vitamina C, parece funcionar también como prooxidante. A presiones parciales de oxígeno inferiores a 150 Torrs es un excelente secuestrador de radicales libres, mientras que a presiones de oxígeno muy elevadas muestra efectos prooxidantes autocatalíticos.

5.2.2.3. Ubiquinol

El ubiquinol o coenzima Q reducido (QH_2) se puede considerar como un antioxidante, porque interviene en el reciclaje de la vitamina E hasta su forma reducida **(Ecuación 26)** y porque es capaz de reaccionar con los radicales alcoxilo y peroxilo de los lípidos, deteniendo, de este modo, la cadena de propagación del daño peroxidativo **(Figura 20)**. El papel antioxidante de esta molécula, sin embargo, es discutido, porque cuando el QH_2 interacciona con los radicales libres se forma el radical semiquinona (QH$^{\cdot}$), que tiene actividad prooxidante.

QH_2 + vitamina E$^{\cdot}$ → QH$^{\cdot}$ + vitamina E (26)

5.2.2.4. Bilirrubina

Este producto del catabolismo de las hemoproteínas, que se consideraba tóxico para los tejidos si se acumulaba en altas concentraciones, se ha propuesto como un antioxidante de los rompedores de cadena con una gran importancia fisiológica.

A presiones de oxígeno fisiológicas, la bilirrubina es capaz de reaccionar directamente con los radicales peroxilo que se originan durante la peroxidación lipídica.

6. Regulación de la expresión génica por especies reactivas de oxígeno

Los radicales libres de oxígeno son generados por todas las células aeróbicas y, como se ha descrito anteriormente, son responsables de muchas

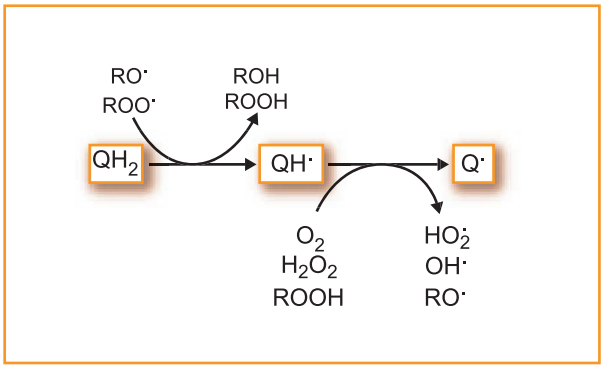


Figura 20. *Actividad antioxidante del ubiquinol y prooxidante de la semiquinona.*

reacciones perjudiciales que influyen en diversos procesos bioquímicos. Pero estos radicales libres, además, influyen en la expresión de un gran número de genes y regulan muchas rutas de transducción de señales de membrana. De hecho, se han identificado ya más de 100 genes en mamíferos que pueden ser regulados por el estado redox celular. Los antioxidantes de origen celular, o los procedentes de la dieta, o los farmacológicos, influyen en los niveles de ROS; por lo tanto, pueden modular la influencia de estas especies reactivas sobre la expresión génica.

Se ha demostrado que muchas hormonas y factores de crecimiento alteran los niveles intracelulares de los radicales libres de oxígeno. Asimismo, se han descubierto rutas de transducción de señales que se activan por las ROS, por lo que no es sorprendente que las especies reactivas de oxígeno sean consideradas como auténticos segundos mensajeros que pueden alterar la función de proteínas específicas.

La regulación de la expresión génica por estrés oxidativo ocurre a varios niveles. En algunos casos, la regulación del gen es sensible al estado redox por la susceptibilidad de intermediarios de la ruta de transducción de señales de membrana implicada a las especies reactivas de oxígeno. En otros casos, las ROS alteran la expresión, el recambio o la translocación de factores de transcripción específicos. Por último, las especies reactivas de oxígeno pueden modificar la afinidad de esos factores de transcripción por sus sitios de unión al DNA.

Los mecanismos moleculares mediante los que el estado redox regula la transducción de señales de membrana no están totalmente dilucidados; sin embargo, se postula que podrían estar implicadas la oxidación o la reducción de los grupos sulfidrilo de las proteínas, los cuales podrían conducir a modificaciones conformacionales de las mismas, que alterarían su funcionalidad. Así, por ejemplo, esos cambios conformacionales en las proteínas podrían liberar subunidades inhibidoras, o promover la formación de determinados complejos proteicos necesarios para que la transducción de señales o la transcripción se llevasen a cabo, o aumentar o disminuir su capacidad para unirse al DNA.

Existen distintas rutas de transducción de señales que son sensibles al estado redox de la célula, así como distintas posibilidades de actuación de las especies reactivas de oxígeno en las mismas. El estrés oxidativo puede estimular la fosforilación de distintos receptores de membrana activándolos; también puede incrementar la actividad de enzimas reguladas por receptores como las fosfolipasas A_2, C y D, algunos de cuyos productos de reacción son segundos mensajeros, puede incrementar la actividad de distintas kinasas o puede regular la actividad de factores de transcripción como NF-κB, AP-1, p53, Gadd153/CHOP y STAT3. En este apartado sólo se describirán algunos de los sistemas más estudiados, en concreto, se tratarán las MAP kinasas, la proteína kinasa C y el factor de transcripción NF-κB (*ver Capítulo 1.5*).

6.1. MAP kinasas

Muchas señales extracelulares, como los factores de crecimiento o las citokinas, inducen cambios en el comportamiento celular mediante la utilización de una vía de señalización desde la membrana plasmática al núcleo, donde se regula la expresión génica. El primer paso de esta vía de señalización implica la activación por fosforilación de receptores de membrana con actividad tirosina kinasa (*ver Capítulo 1.5*). En la vía de Ras, el receptor activado estimula una serie de kinasas citosólicas, la última de las cuales, después de activarse por fosforilación, migra al núcleo y activa, a su vez, genes específicos mediante la fosforilación de determinados factores de transcripción. De este modo, se produce la transcripción de genes que codifican a las proteínas correspondientes a la respuesta celular deseada ante la señal extracelular recibida.

Las MAP kinasas (proteína kinasas activadas por mitógenos) son una familia de kinasas que actúan en diferentes cascadas de transducción de señales. Hay distintas subfamilias MAP kinasas y todas las rutas en las que participan son sensibles al estado redox de

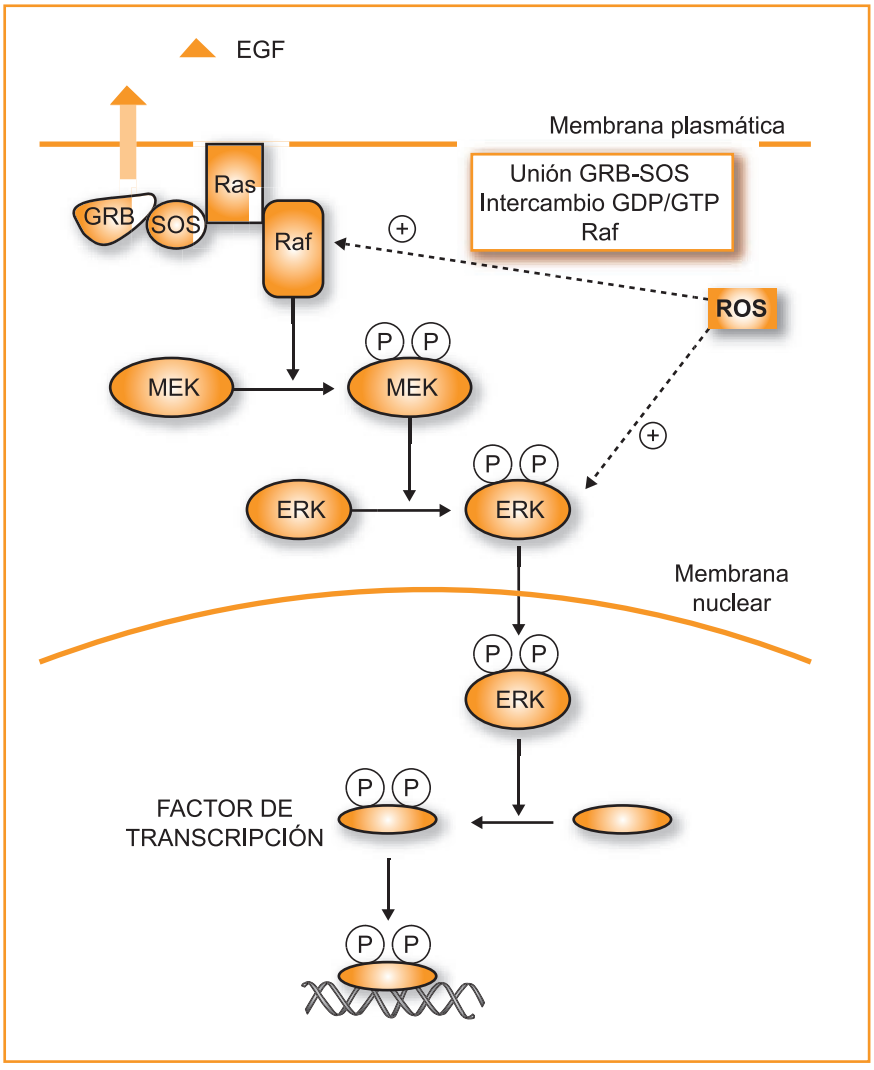


Figura 21. *Activación de la vía de Ras por especies reactivas de oxígeno. EGF: factor de crecimiento epidérmico; ERK: proteína kinasa regulada por señales extracelulares; MEK: MAP kinasa/ERK; ROS: especies reactivas de oxígeno.*

la célula. Se ha demostrado que, en la vía de señalización de Ras para el factor de crecimiento epidérmico (EGF), algunos oxidantes, como el H_2O_2, son capaces de estimular la unión de dos proteínas, GRB y SOS. El complejo GRB/SOS se une al receptor fosforilado y activa a su vez a Ras. La activación de Ras tiene lugar cuando la molécula de GDP que lleva unida se intercambia por GTP, pero dicho intercambio sólo se produce cuando Ras está en contacto con GRB/SOS unido al receptor. Distintos oxidantes también son capaces de inducir el intercambio GDP-GTP posiblemente por interacciones de dichos oxidantes con la cisteína 118 de Ras. Ras unida a GTP activa una cascada de tres kinasas: la primera kinasa es Raf, que necesita interaccionar con Ras para activarse, Raf se fosforila y fosforila a su vez a MEK (MAP kinasa/ERK), la segunda kinasa, que fosforila a ERK (proteína kinasa regulada por señales extracelulares), la última de las tres kinasas, que es la que entra en el núcleo y fosforila los factores de transcripción diana **(Figura 21)**.

Algunas de estas kinasas se estimulan por tratamiento con H_2O_2, lo que sugiere que son sensibles al estado redox de la célula. Realmente, los efectos de muchos oxidantes sobre genes sensibles al estado redox celular están mediados por efectos sobre las MAP kinasas.

6.2. Proteína kinasa C (PKC)

Las proteína kinasas C son una familia de kinasas que catalizan una de las primeras etapas en las cascadas de señalización que regulan procesos como la proliferación celular (*ver Capítulo 1.5*). En condiciones normales, los activadores de las PKC son los diacilgliceroles (DAG) formados a partir del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP_2), en respuesta a estímulos proliferativos **(Figura 22)**. Ahora bien, las ROS también pueden activar las PKC. La activación de las PKC por las ROS se puede llevar a cabo directamente o bien mediante la activación de las fosfolipasas que metabolizan el PIP_2 a IP_3 (inositol-1,4,5-trisfosfato) y DAG. El IP_3 favorece la salida de los iones calcio de sus reservorios al citosol y, de esta manera, junto al DAG estimula la actividad PKC. Estas kinasas tienen un dominio N-terminal regulador rico en cisteínas fácilmente oxidables. Cuando estas cisteínas están oxidadas, el

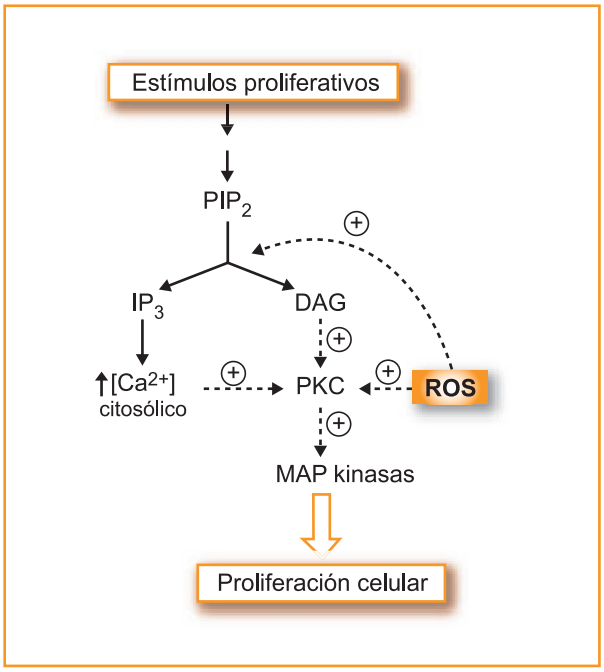


Figura 22. *Regulación de las proteína kinasas C. IP_3: inositol-1,4,5-trifosfato; DAG: diacilglicerol; PIP_2: fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato; PKC: proteína kinasa C; MAP kinasas: proteína kinasas activadas por mitógenos. ROS: especies reactivas de oxígeno.*

dominio regulador pierde su función autoinhibidora y la PKC se activa. Se ha demostrado que las PKC activan las MAP kinasas, en concreto se ha demostrado que son capaces de fosforilar Raf; por tanto, las ROS, de este modo, también podrían regular la expresión génica. Es bien conocido que las PKC están dentro del grupo de moléculas señalizadoras que son susceptibles de modificación oxidativa, se activan por estrés oxidativo y se inhiben por antioxidantes.

La activación de las PKC podría tener un papel fundamental en la promoción tumoral. Así, la regulación redox podría ser un mecanismo para relacionar la PKC con la promoción tumoral mediada por oxidantes y nos permitiría comprender el papel protector de los antioxidantes frente a la aparición de cáncer.

6.3. NF-κB

Este factor de transcripción está presente en muchos tipos de células y desempeña un papel importante como una de las primeras líneas de defensa del organismo frente a situaciones que amenazan la salud del mismo. El NF-κB está implicado, por ejemplo, en la regulación de numerosos genes, como los de las proteínas de fase aguda, los de los receptores de la superficie celular o los de las citokinas. La activación de la respuesta antioxidante también está mediada, al menos parcialmente, por el NF-κB.

El prototipo de NF-κB es un complejo proteico constituido por dos subunidades de peso molecular 50 kDa (p50) y 65 kDa (p65), respectivamente, y que se encuentra en la mayor parte de las células unido a una proteína inhibidora denominada IκB. Este complejo permanece inactivo en el citoplasma mientras que está unido a IκB; sin embargo, cuando IκB se fosforila, se activa una señal para su ubiquitinación que estimula la degradación de la proteína inhibidora por el proteasoma. El heterodímero NF-κB activo puede ahora translocarse al núcleo, donde se une a secuencias específicas del DNA y estimula la transcripción de genes específicos **(Figura 23)**. La activación del NF-κB se produce en respuesta a un amplio rango de estímulos que incluyen citokinas, factores de crecimiento, infecciones víricas, el estrés oxidativo y diversos xenobióticos. Un estudio más detallado del NF-κB se realiza en el Capítulo 1.7.

Las especies reactivas de oxígeno parecen activar el NF-κB de diferentes maneras. Las reacciones citosólicas que conducen a la activación del factor nuclear NF-κB están mediadas por diferentes kinasas que están reguladas por reacciones redox, de modo que el estado oxidante del citosol las activa, se incrementa así la fosforilación y, por tanto, la degradación del IκB. Muchas de las enzimas que están implicadas en la fosforilación de proteínas se pueden regular por reacciones de óxido-reducción. Ahora bien, las moléculas que son objeto de regulación redox durante la activación de NF-κB aún no se conocen con exactitud. Distintas evidencias apuntan a que la fosforilación de IκB se lleva a cabo por unas kinasas, denominadas IκB kinasas (IKK), que están agrupadas formando complejos proteicos y que, a su vez, pueden regularse por fosforilación. Otras kinasas como las MAP kinasas, la proteína kinasa A (PKA) o la proteína kinasa C también podrían estar implicadas en este proceso. En cualquier caso, la fosforilación de las proteínas podría dar lugar a cambios estructurales en las mismas, que expondrían sus grupos tioles a los ROS. La oxidación de cisteínas que fuesen críticas para la función de la proteína sería el mecanismo mediante el cual las ROS podrían regular su actividad.

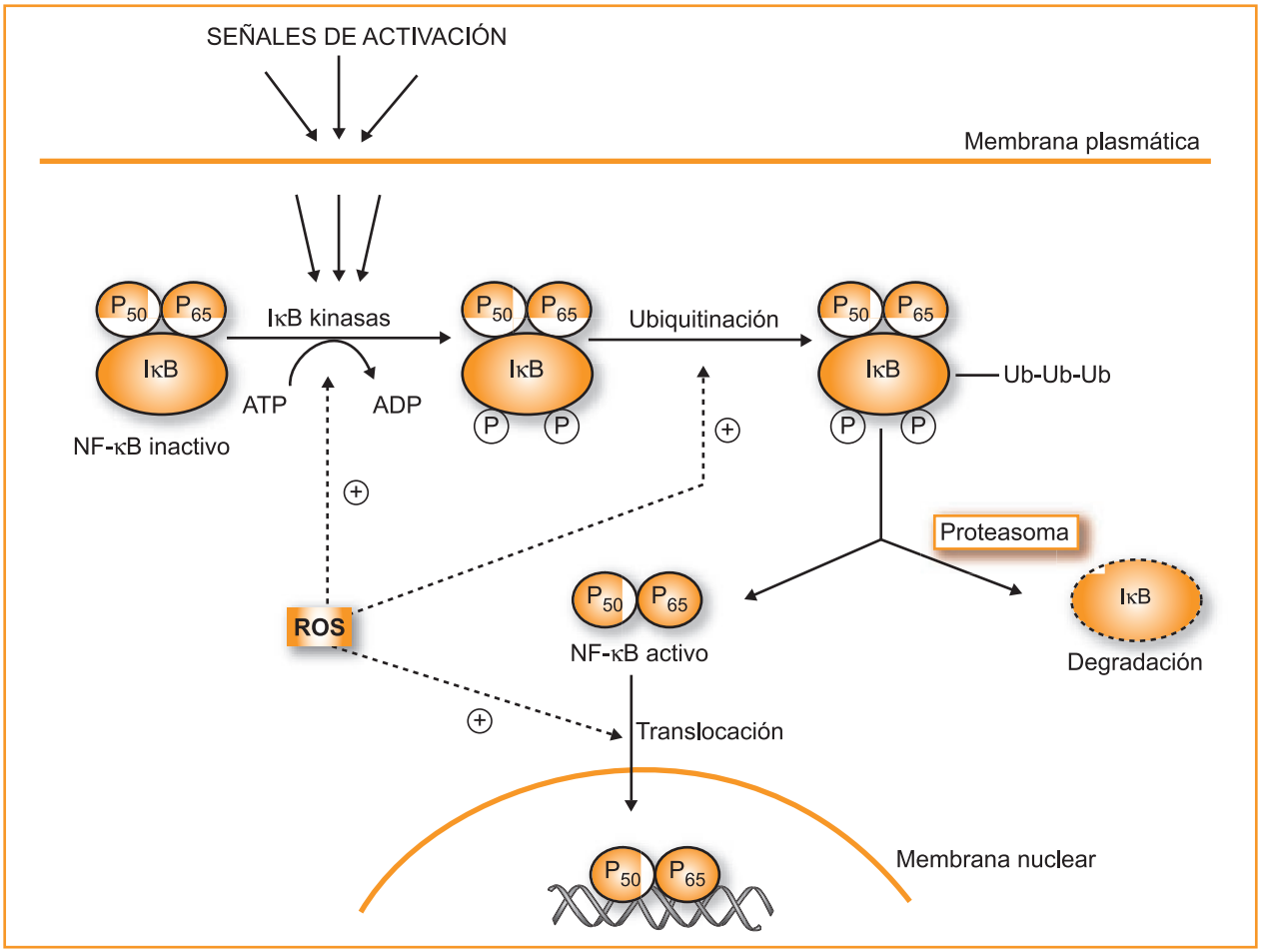


Figura 23. *Activación del factor de transcripción NF-κB. IκB: proteína inhibidora del NF-κB; ROS: especies reactivas de oxígeno; Ub: ubiquitina.*

Las fosfatasas son un componente importante en muchas rutas de transducción de señales de membrana porque revierten la acción de las kinasas. Las especies reactivas de oxígeno también son capaces de modular la actividad de estas enzimas y, en muchos casos, lo hacen inhibiéndolas mediante la oxidación de aniones tiolato de sus centros catalíticos. Todo este sistema se complica bastante, si se piensa que muchas fosfatasas se regulan por procesos de fosforilación/desfosforilación. Además del papel de las especies reactivas de oxígeno en la liberación de la subunidad inhibidora IκB, varios estudios han demostrado que la ubiquitinación y la translocación del NF-κB pueden estar relacionadas con señales redox.

Por último, el NF-κB que se transloca al núcleo también puede estar sujeto a una modificación postraduccional por fosforilación que aumenta su actividad transcripcional.

Aunque la activación del NF-κB mediante la liberación y degradación de IκB está demostrado que ocurre en condiciones oxidativas, sorprendentemente, la unión del NF-κB translocado y activo al DNA parece dependiente de condiciones reductoras. De hecho, en estudios realizados con glutatión, se ha comprobado que el GSSG es necesario para iniciar la activación del NF-κB, mientras que el GSH se requiere para la unión óptima de este factor de transcripción al DNA.

Al estar el NF-κB implicado en las respuestas inflamatoria e inmune y, como se ha visto, activarse por oxidantes, podrían emplearse terapias que condujesen a una modificación del estado redox de la célula y decreciesen la activación de este factor de transcripción para controlar la iniciación y progresión de muchas enfermedades. Así, actualmente se están ensayando este tipo de terapias en el tratamiento de la infección por el HIV-1 o en la aterosclerosis.

7. Resumen

- El oxígeno es un elemento esencial para los organismos aerobios; sin embargo, puede resultar tóxico debido a los radicales libres que se originan a partir de él. Los radicales libres son especies químicas que contienen uno o más electrones desapareados en sus orbitales externos. Estas especies químicas son muy reactivas e inestables porque, inmediatamente después de que se forman, extraen un electrón de otras moléculas cercanas. El oxígeno molecular es un birradical, pero su reactividad es baja, porque los espines de sus dos orbitales externos tienen direcciones paralelas. La reactividad del oxígeno molecular puede aumentar por inversión de uno de sus espines y se originarían los oxígenos singlete, o por su reducción secuencial y univalente para producir radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radical hidroxilo ($OH^{\cdot}$).

- Todas esas especies reactivas de oxígeno (ROS) se están produciendo continuamente en el organismo y muchas de ellas incluso resultan beneficiosas para el mismo. Ahora bien, cuando se producen en exceso o cuando los sistemas de defensa antioxidante están deteriorados, surge el daño oxidativo.

- La fuente principal de radicales libres de oxígeno en las células eucarióticas es la cadena respiratoria, pero los sistemas de transporte electrónico microsomal también producen radicales libres. Diversas enzimas generan radicales libres durante su ciclo catalítico y, entre ellas, cabe destacar la xantina oxidasa o la NADPH oxidasa. Además de las fuentes intracelulares, existen fuentes exógenas de radicales libres de oxígeno y aquí se incluyen distintos tipos de radiaciones y muchos xenobióticos que al metabolizarse dan lugar a un ciclo redox en el que se generan radicales superóxido.

- Los radicales libres de oxígeno pueden interaccionar con la mayor parte de los constituyentes celulares. Cuando las proteínas, los lípidos, los ácidos nucleicos o los hidratos de carbono son dañados oxidativamente por estas especies químicas, sufren diversos tipos de modificaciones estructurales que alteran su funcionalidad. Las consecuencias son el deterioro de la homeostasis celular y la aparición de la enfermedad e incluso la muerte.

- Para contrarrestar los efectos nocivos de los radicales libres de oxígeno, las células disponen de sistemas de defensa antioxidante. En ellos se incluyen enzimas, como las superóxido dismutasas, las glutatión peroxidasas, la glutatión reductasa, la catalasa, distintos tipos de proteasas, fosfolipasas, la poli(ADP-ribosa) sintetasa y algunas más, y moléculas de bajo peso molecular, como el glutatión, el ácido ascórbico, el ácido úrico, la taurina, los carotenoides, la vitamina E, el ubiquinol o la bilirrubina. Algunos de estos sistemas funcionan eliminando los radicales libres antes de que reaccionen con cualquier molécula, y otros retiran los radicales propagadores, deteniendo su efecto nocivo en las etapas iniciales.

- Se ha demostrado que el estrés oxidativo regula la expresión génica. En unos casos, la regulación del gen se ejerce por la susceptibilidad a las especies reactivas de oxígeno de intermediarios de la ruta de transducción de señales de membrana y, en otros casos, por las modificaciones oxidativas de la expresión, la translocación o la unión al DNA de factores de transcripción. La regulación por el estado redox de las MAP kinasas, las proteína kinasas C o el factor de transcripción NF-κB son algunos de los ejemplos mejor estudiados.

8. Bibliografía

Allen RG. Oxidative stress and gene regulation. Free Radic Biol Med 2002; 28: 463-99.
Ésta es una revisión de los efectos redox sobre la expresión génica y las rutas de transducción de señales de membrana.

Diplock AT, Chaleux J-L, Crozier-Willi G, et al. Functional food science and defence against reactive oxidative species. British J Nutr 1998; 8 (Suppl): 77S-112S.
Este artículo presenta argumentos que demuestran que los daños oxidativos son los causantes del desarrollo de muchas patologías y que los antioxidantes previenen o mejoran el proceso patológico.

Dunlop RA, Rodgers KJ, Dean RT. Recent developments in the intracellular degradation of oxidized proteins. Free Radic Biol Med 2003; 33: 894-906.
En este artículo se estudian con detalle distintos sistemas para degradar proteínas oxidadas.

Griffiths HR, Moller L, Bartosz G, et al. Biomarkers. Mol Aspects Med 2002, 23: 102-208.
Este artículo describe los cambios moleculares producidos por las especies reactivas de oxígeno en las moléculas biológicas.

Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement, and significance. Am J Clin Nutr 1993; 57 (Suppl): 715S-25S.
Este artículo ofrece una descripción detallada del proceso de peroxidación lipídica y su significado biológico.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd ed. Oxford University Press. Oxford, New York, 1999.
Este libro, que ha sido reeditado varias veces, trata la mayor parte de los aspectos relacionados con los radicales libres. Todo el libro aporta valiosa información para completar la presentada en este Capítulo.

Jackson MJ, Popa S, Bolaños J, et al. Antioxidants, reactive oxygen and nitrogen species, gene induction and mitochondrial function. Mol Aspects Med 2002, 23: 209-85.
Ésta es una completísima revisión en la que se describen rutas que son reguladas por distintos tipos de radicales libres. También se analiza con detalle el papel de los oxidantes y antioxidantes en la mitocondria.

Janssen-Heininger YMW, Poynter ME, Baeuerle PA. Recent advances towards understanding redox mechanisms in the activation of nuclear factor κB. Free Radic Biol Med 2000; 28: 1317-27.
En este artículo se estudia con detalle la regulación redox del factor de transcripción NF-κB.

Kow YW. Repair of deaminated bases in DNA. Free Radic Biol Med 2003; 33: 886-93.
En este artículo se abordan los daños al DNA por los radicales libres, así como los principales sistemas de reparación del DNA que las células utilizan.

Martínez-Cayuela M. Oxygen free radicals and human disease. Biochimic 1995; 77: 147-61.
Ésta es una revision muy sintetizada, que estudia aspectos relacionados con los radicales libres de oxígeno y que aporta información sobre la implicación de estas especies reactivas en diferentes enfermedades humanas.

Martínez-Cayuela M. Toxicidad de xenobióticos mediada por radicales libres de oxígeno. Ars Pharmaceutica 1998; 39: 5-18.
En este trabajo se analiza la producción de radicales libres por distintos xenobióticos.

Szabó C, Dawson VL. Role of poly (ADP-ribose) synthetase in inflammation and ischaemia-reperfusion. TiPS 1998; 18: 287-98.
En este artículo se estudia el papel de la poli(ADP-ribosa) sintetasa somo sistema de defensa antioxidante y se evalúa la inhibición farmacológica de esta enzima en el tratamiento de algunas alteraciones clínicas.

Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Review 1994; 74: 139-62.
Ésta es una revisión en la que se describen las propiedades básicas y las posibles interacciones de los distintos sistemas antioxidantes.

9. Enlaces web

- www.raf.es/Publicaciones/Monografias/monografia4.htm
- www.oxygensociety.org/
- www.antioxidantes.com.ar/12/home.htm
- www.antioxidantes.com.ar/12/Articulos_Listado.asp

1.20. Vitamina C, vitamina E y otros antioxidantes de origen alimentario

María del Carmen Ramírez Tortosa ■ José Luis Quiles Morales

Capítulo 1.20.

Vitamina C, vitamina E y otros antioxidantes de origen alimentario

1. Introducción

2. Vitamina C

2.1. Estructura química

2.2. Absorción y metabolismo

2.3. Propiedades y funciones fisiológicas de la vitamina C

2.3.1. Vitamina C como antioxidante

2.4. Requerimientos nutricionales y valores fisiológicos normales

2.5. Deficiencias y estados carenciales

2.6. Fuentes alimentarias

2.7. Vitamina C y salud

2.7.1. Enfermedad cardiovascular

2.7.2. Cáncer

2.7.3. Cataratas

2.7.4. Resfriado común

3. Vitamina E

3.1. Estructura química

3.2. Absorción y metabolismo

3.3. Propiedades y funciones fisiológicas de la vitamina E

3.3.1. La vitamina E como antioxidante

3.3.2. Peroxidación mediada por tocoferol (PMT)

3.4. Requerimientos nutricionales y valores fisiológicos normales

3.5. Deficiencias y estados carenciales

3.6. Fuentes alimentarias

3.7. Vitamina E y salud

3.7.1. Vitamina E y enfermedad cardiovascular

3.7.2. Vitamina E y cáncer

3.8. Análogos de la vitamina E

3.8.1. α-tocoferil succinato

3.8.2. Derivado hidrosoluble de la vitamina E (TMG)

3.8.3. γ-tocoferol (γ-TE)

3.9. Eficacia de la vitamina E natural frente a la sintética

4. Otros antioxidantes de origen alimentario

4.1. Coenzima Q_{10}

4.1.1. Estructura química
4.1.2. Localización y niveles tisulares
4.1.3. Propiedades y funciones fisiológicas
4.1.4. Deficiencias y estados carenciales
4.1.5. Fuentes alimentarias
4.1.6. Coenzima Q_{10} y salud
4.2. Compuestos fenólicos
4.2.1. Flavonoides
4.2.1.1. Estructura química
4.2.1.2. Fuentes alimentarias
4.2.1.3. Absorción y metabolismo
4.2.1.4. Función antioxidante
4.2.2. Resveratrol
4.2.3. Cúrcuma y curcuminoides
4.2.3.1. Funciones y mecanismos de acción de los curcuminoides
4.2.4. Aceite de oliva virgen y compuestos fenólicos

5. Resumen

6. Bibliografía

7. Enlaces web

Objetivos

- Estudiar el papel de las vitaminas E y C en la salud.
- Conocer la importancia general de los antioxidantes de la dieta.
- Identificar los grandes grupos de antioxidantes de origen alimentario en función de su estructura química.
- Estudiar el metabolismo de los principales antioxidantes provenientes de la dieta.
- Analizar los efectos fisiológicos de los antioxidantes de mayor importancia presentes en la dieta.
- Conocer las fuentes alimentarias más importantes para cada tipo de antioxidante.
- Reconocer los principales efectos sobre la salud de los antioxidantes estudiados.

1. Introducción

Existen muchas evidencias de que la enfermedad cardiovascular y el cáncer, causantes de los mayores índices de mortalidad, pueden ser prevenidos o disminuidos con algunos cambios en la dieta, como, por ejemplo, con la reducción de la ingesta de grasa y el aumento del consumo de alimentos ricos en antioxidantes tales como frutas, cereales y verduras. Ya que los antioxidantes endógenos no son totalmente eficientes, es razonable pensar en la importancia de las suplementaciones de la dieta con este tipo de sustancias para disminuir los efectos acumulados del daño oxidativo a lo largo de la vida.

Se conocen numerosos componentes de la dieta con propiedades antioxidantes, como son el α-tocoferol, γ-tocoferol, tocotrienol, ácido ascórbico, β-caroteno, los flavonoides y otras sustancias como el ubiquinol y los compuestos fenólicos. Se han realizado numerosos estudios epidemiológicos que muestran que la ingesta dietética de vitamina E, y quizás de β-caroteno, está inversamente asociada con el riesgo de enfermedad vascular. Hay dos estudios que muestran que la quinta parte de los sujetos con una ingesta alta de vitamina E disminuían en un 50% el riesgo de enfermedades cardiovasculares, y se comprobó que los niveles normales de la dieta no alcanzan a proteger frente a la oxidación *ex vivo* de las LDL. Comparaciones entre diferentes poblaciones europeas revelan una relación inversa entre la velocidad de progresión de la enfermedad cardiovascular y de algunos tipos de cáncer y los niveles plasmáticos de vitamina E, vitamina C y algunos compuestos fenólicos.

Un hecho importante a destacar es el efecto sinérgico que puede existir entre los antioxidantes lipofílicos y los hidrofílicos. Se ha demostrado que la vitamina C mantiene los niveles de vitaminas E y A en el medio, disminuyendo el estrés oxidativo al secuestrar radicales libres.

El escaso aporte diario requerido para estos compuestos puede ser causante de serias enfermedades como el escorbuto, anemia, metabolismo disminuido de la creatinina, disminución de la respuesta inmunológica y otras complicaciones relacionadas con la falta de protección antioxidante que ejercen estos compuestos en muchas patologías.

El objetivo de este Capítulo es presentar las estructuras y revisar la absorción, el metabolismo, las propiedades y las funciones fisiológicas de las vitaminas C y E, así como de otros antioxidantes alimentarios.

2. Vitamina C

La vitamina C es un antioxidante hidrosoluble con un alto poder reductor. Actúa como cofactor para numerosas enzimas implicadas en la biosíntesis de colágeno, carnitina y algunos neurotransmisores, y puede atrapar una gran variedad de especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno en medios acuosos. La vitamina C se considera esencial, ya que no puede ser sintetizada por humanos, además de por primates, cobayas y otras especies como peces, aves e insectos. Algunos animales la sintetizan a partir de la glucosa mediante la vía del ácido glucurónico; los que no la pueden sintetizar es porque carecen de la enzima que cataliza la etapa final de oxidación; por lo tanto, estos deben ingerir o adquirir la vitamina a través de la alimentación.

Esta vitamina se halla muy extendida en la naturaleza, pero se encuentra principalmente en los alimentos de origen vegetal, en los que aparece de manera natural bajo dos formas químicas interconvertibles: ácido ascórbico (forma reducida) y ácido dehidroascórbico (forma oxidada); ambas formas poseen similar acción biológica. Esta vitamina ha sido y es objeto de numerosas investigaciones; se la considera involucrada en la curación y prevención de enfermedades tales como el escorbuto o el resfriado común, y actualmente se la relaciona con otras enfermedades como el cáncer, la aterosclerosis, enfermedades inmunológicas, etc.

2.1. Estructura química

Dentro del término "vitamina C" se engloban todos los compuestos que presentan la actividad biológica del ácido L-ascórbico (ácido 2,3-enediol, L-gulónico). Éste es un compuesto químicamente sencillo -aunque presenta una estructura inusual-, cuya fórmula empírica es $C_6H_8O_6$; es un derivado lactónico del ácido hexurónico y se corresponde con una forma oxidada de la glucosa; en concreto es una α-cetolactona de 6 átomos de carbono que muestra un anillo lactona de cinco miembros y un grupo enediol bifuncional con un grupo carbonilo adyacente. El mencionado grupo enediol es esencial para su actividad biológica **(Figura 1)**.

El ácido ascórbico o ascorbato es un buen agente reductor; al perder un electrón se forma un radical relativamente estable, el radical semihidroascórbico, el cual sufre una segunda oxidación dando lugar al ácido dehidroascórbico. Este último paso es reversible, por lo que ambas formas se pueden encontrar en la naturaleza. Si el ácido ascórbico pierde agua por deshidratación se transforma en ácido dicetogulónico mediante una reacción irreversible que da lugar a un producto que no es biológicamente activo **(Figura 2)**.

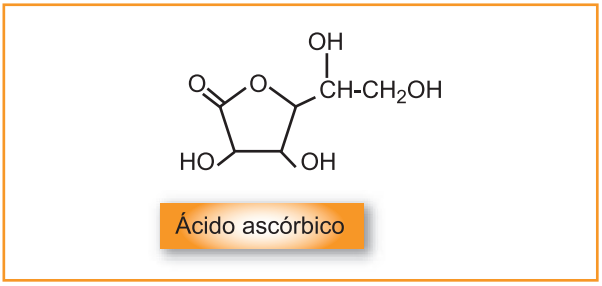


Figura 1. *Estructura química de la vitamina C o ácido ascórbico.*

2.2. Absorción y metabolismo

La vitamina C se absorbe rápidamente en el tracto intestinal mediante transporte activo dependiente de iones sodio, proceso saturable y dependiente de la dosis. Parece ser que el ácido deshidroascórbico es absorbido mediante mecanismos de difusión facilitada, aunque hay autores que piensan que pueden existir otras vías alternativas de absorción como la conversión a ascorbato en el lumen intestinal. En plasma, el ácido ascórbico es transportado en forma de ascorbato, aunque no se han identificado proteínas específicas para su transporte. Al interior de las células sanguíneas es transportado en forma de dehidroascorbato, ya que la membrana es más permeable a esta forma. Una vez en el interior de la célula se transforma inmediatamente en ascorbato. El transporte celular de ácido ascórbico y dehidroascórbico es mediado por transportadores que varían según el tipo de células. La acumulación de ascorbato en los neutrófilos y linfocitos es mediada por transportadores de alta y baja afinidad, y la vitamina se localiza principalmente en el citosol.

Debido a que las formas oxidadas de la vitamina C son inmediatamente reducidas a ácido ascórbico, es muy poca cantidad de vitamina la que se cataboliza y se transforma en los siguientes metabolitos

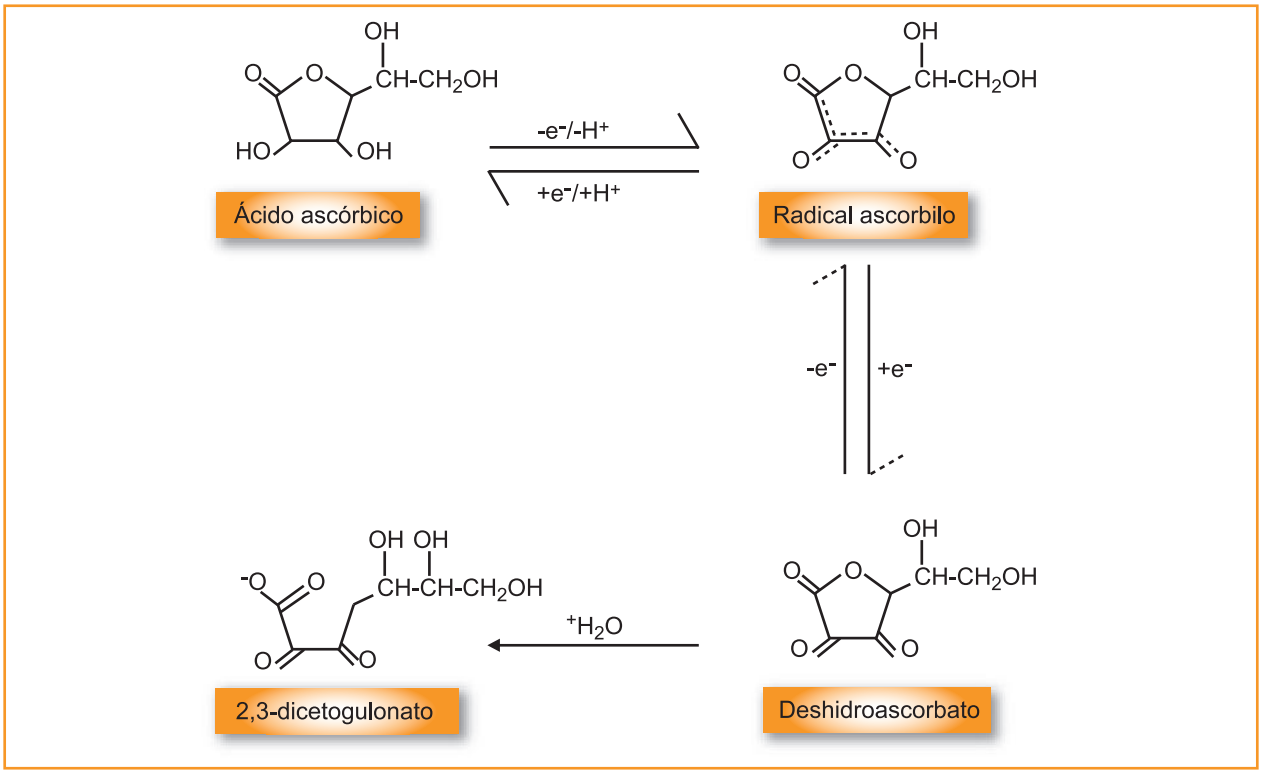


Figura 2. *Metabolitos intermediarios del ácido ascórbico. Tras la pérdida de un electrón se forma el radical ascorbilo, que rápidamente se oxida, dando lugar al dehidroascorbato, con igual actividad que el ácido ascórbico. La ganancia de una molécula de agua por el dehidroascorbato da lugar al 2,3-dicetogulonato, que es un metabolito inactivo.*

excretables: ácido dehidroascórbico, ácido oxálico y ácido dicetogulónico. A pesar de su absorción dependiente de la dosis, un segundo mecanismo de regulación del contenido de ascorbato en el organismo es el renal, por donde se excretan metabolitos o el propio ácido ascórbico. Investigaciones recientes han demostrado que se excretan muy bajas cantidades de ascorbato, pero esta excreción aumenta de forma proporcional al incremento de su ingesta por la dieta.

La concentración de vitamina C en los tejidos es mayor que en el plasma y en la saliva. Niveles elevados se encuentran en las glándulas hipófisis y suprarrenal, en leucocitos, en el páncreas, los riñones, el bazo y el cerebro.

2.3. Propiedades y funciones fisiológicas de la vitamina C

Las funciones biológicas del ácido ascórbico se basan en su capacidad reductora en una gran variedad de reacciones bioquímicas. Gracias a su poder reductor, esta vitamina también puede reducir especies reactivas del oxígeno. Su principal función es como cofactor de numerosas reacciones que requieren cobre o hierro reducido y como antioxidante hidrosoluble que actúa intra y extracelularmente. Los productos de oxidación de la vitamina son regenerados *in vivo* de una forma muy rápida por glutatión, nicotinamida-adenina dinucleótido (NADH) y nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato (NADPH) reducidos.

Es conocida la propiedad de la vitamina C de donar un electrón a ocho enzimas humanas. Tres participan en la hidroxilación del colágeno, dos en la biosíntesis de carnitina y las tres restantes en la biosíntesis de hormonas y aminoácidos. Algunos estudios sugieren que el ascorbato desempeña un papel importante en la expresión génica del colágeno, en la secreción celular de procolágeno y en la biosíntesis de otras sustancias del tejido conectivo, además del colágeno, como son elastina, fibronectina, proteoglicanos y elastina asociada a fibrilina.

El ácido ascórbico también está implicado en la síntesis y modulación de algunos componentes hormonales del sistema nervioso, por ejemplo, en la hidroxilación de dopamina a noradrenalina.

2.3.1. Vitamina C como antioxidante

Son muchas las enfermedades que cursan con un aumento del estrés oxidativo, tal y como la enfermedad cardiovascular. Es conocido el papel de las LDL oxidadas en el desarrollo de la aterosclerosis. Estudios *in vitro* han confirmado que la vitamina C, a una concentración de 0,8 mg/dl, inhibe la oxidación de las LDL provocada por metales. Esta propiedad de la vitamina C se debe a su capacidad de secuestrar especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno protegiendo a las LDL de su ataque. Por lo tanto, en todos los ensayos *in vitro* se demuestra claramente que la vitamina C tiene función antioxidante. Sin embargo, en los ensayos *in vivo* hay más controversia en la literatura sobre el efecto de una suplementación con dicha vitamina y su efecto inhibitorio de la peroxidación lipídica, sobre todo en lo que atañe a las LDL. Parece que es debido a que la vitamina C es hidrosoluble y no se transporta dentro de las LDL.

La adhesión de células mononucleares al endotelio es una etapa clave en el desarrollo de la aterosclerosis, que se acompaña de un gran estrés oxidativo. Muchos estudios realizados sobre fumadores a los que se les suplementaba con vitamina C han demostrado que esta molécula inhibe la adhesión de los monocitos al endotelio, e impide la inactivación del NO por el radical superóxido potenciando su síntesis, lo cual favorece la vasodilatación.

Algunos estudios reflejan la capacidad antioxidante de esta vitamina en los leucocitos, en los que se genera gran cantidad de radicales libres durante la fagocitosis y la activación de los neutrófilos como consecuencia de procesos inflamatorios e infecciosos. La vitamina C es transportada dentro de los neutrófilos, plaquetas y linfocitos por un transportador dependiente de ATP, consiguiendo, respectivamente, niveles en su interior 30, 40 u 80 veces superiores a los hallados en plasma. La vitamina C neutraliza el hipoclorito, potente oxidante generado por la mieloperoxidasa producida por los neutrófilos y monocitos activados.

A pesar del importante poder antioxidante de la vitamina C, a determinadas dosis y en determinadas situaciones fisiológicas se ha encontrado un efecto prooxidante. Dicha capacidad prooxidante se debe a la potente acción reductora que presenta, capaz de reducir Fe^{3+} y Cu^{2+} a Fe^{2+} y Cu^{+}, respectivamente. Estos metales reducidos pueden generar, en presencia de oxígeno, un gran estrés oxidativo. Es importante destacar que se requieren bajas concentraciones de ascorbato para actuar como prooxidante si la concentración de metales en el medio es alta. Existe mucha controversia en la literatura sobre la concentración a la cual el ascorbato actúa como prooxidante, lo cual es debido a la disparidad de concentraciones tanto de la vitamina como de los metales empleados en los distintos estudios.

Una de las funciones más importantes del ascorbato es su capacidad de reciclar el radical tocoferilo ($TO^{\cdot}$), generando tocoferol (TE) y el radical ascorbilo ($Asc^{\cdot -}$) mediante la siguiente reacción:

$$TO^{\cdot} + AscH^{-} \rightarrow TE + Asc^{\cdot -}$$

2.4. Requerimientos nutricionales y valores fisiológicos normales

En la **Tabla I** se muestran los requerimientos nutricionales de vitamina C por edades y sexos. Para la prevención de la aparición de escorbuto una dosis diaria de 10 mg de ácido ascórbico es suficiente, aunque se cree que son mayores las necesidades para mantener, en general, una buena salud, como se muestra en la tabla de requerimientos. Las ingestas se aumentarán en aquellas situaciones en las que haya un mayor gasto de esta vitamina, como es en fumadores o alcohólicos, en personas con actividad física intensa (deportistas) y, en definitiva, en aquellas situaciones fisiológicas y patológicas en las que se requiera más vitamina C.

El rango de concentración de vitamina C que se considera normal en plasma es muy amplio. Los valoren van desde 0,4 a 1,5 mg/dl, considerándose valores bajos aquellos que están entre 0,2 y 0,4 mg/dl y como deficiencia valores inferiores a 0,2 mg/dl. Las concentraciones plasmáticas de vitamina C en el varón son más bajas que en la mujer, y en ambos sexos disminuye con la edad.

Tabla 1. INGESTAS DIARIAS RECOMENDADAS PARA LA VITAMINA C POR EDADES Y SEXOS

Edad	Ingestas diarias recomendadas (mg/día)
0-6 meses	40
7-12 meses	50
1-3 años	15
4-8 años	25
Hombres	
9-13 años	45
14-18 años	75
19-30 años	90
31-50 años	90
50-70 años	90
> 70 años	90
Mujeres	
9-13 años	45
14-18 años	65
19-30 años	75
31-50 años	75
50-70 años	75
> 70 años	75
Embarazo	
< 18 años	80
19-30 años	85
31-50 años	85
Lactancia	
< 18 años	115
19-30 años	120
31-50 años	120

Fuente: The National Academy of Sciences. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids, 2000. www.nap.edu/openbook/0309069351/html/96.html

Algunos estudios han comprobado que sólo existen en situaciones fisiológicas niveles plasmáticos normales de ácido ascórbico, y no dehidroascórbico. Otros estudios han demostrado que existe una correlación negativa entre la concentración de ácido ascórbico y la de colesterol, triglicéridos, urato y apolipoproteínas.

La concentración de esta vitamina en los tejidos es mayor que en plasma, lo que sugiere que debe existir un mecanismo activo de captación por las células para el ácido ascórbico. La mayor parte de la vitamina C se encuentra libre en el citoplasma celular. La **Tabla 2** muestra la distribución del ascorbato en los distintos tejidos de un adulto.

2.5. Deficiencias y estados carenciales

El escorbuto es la enfermedad ocasionada por una deficiencia en vitamina C (< 0,2 mg/dl), cuyos síntomas están relacionados con alteraciones en el tejido conectivo. El escorbuto se puede definir como la disminución en la capacidad del organismo para sintetizar colágeno dando lugar a una elevada fragilidad de los capilares sanguíneos, aparición de derrames en la piel, órganos y músculo esquelético, retardo en la cicatrización, caída de piezas dentales, astenia, somnolencia, anemia y dolores articulares. La deficiencia de vitamina C en los niños produce anormalidades en el crecimiento y problemas de osificación, síntomas hemorrágicos y anemia pronunciada. Hoy en día el escorbuto es una enfermedad rara en los países desarrollados; aparece ocasionalmente en individuos que no consumen frutas y verduras con dietas muy estrictas o en personas que abusan del alcohol y las drogas. La mayor incidencia de esta enfermedad recae en hombres de edad avanzada y con un bajo poder adquisitivo. El escorbuto infantil es muy infrecuente gracias a la leche humana, que aporta grandes cantidades de vitamina C, y a las fórmulas infantiles que están suplementadas con esta vitamina.

2.6. Fuentes alimentarias

La vitamina C está muy extendida en la naturaleza. En general, todas las frutas y verduras la contienen en mayor o menor cantidad, siendo escaso su contenido en los cereales. Las frutas más ricas son las ácidas, ya que el pH bajo estabiliza la vitamina C (kiwi, fresas, grosellas, mango, naranja). Entre los alimentos de origen animal, la cantidad de vitamina C es escasa, aunque aparece en hígado, riñón y cerebro.

La **Tabla 3** presenta los alimentos ricos en vitamina C.

Tabla 2. CONTENIDO DE ASCORBATO EN TEJIDOS

Tejido	mg	% sobre el total de ascorbato en el organismo
Tejido esquelético	1.050	52
Cerebro	225	11
Hígado	175	9
Piel	147	7
Tejido adiposo	140	7
Pulmón	79	4
Sangre	49	2
Riñón	19	2
Corazón	15	2

Tabla 3. ALIMENTOS RICOS EN VITAMINA C

Alimento	mg/100 g de porción comestible
Soja fresca	4.000
Guayaba	273
Grosella negra, coles y repollo	200
Perejil	190
Pimientos	131
Kiwi	94
Berro	87
Zumo de pomelo	84
Papaya	82
Coliflor	67
Fresa y fresón	60
Naranja	50

2.7. Vitamina C y salud

2.7.1. Enfermedad cardiovascular

Existen muchos estudios que consideran la concentración de vitamina C en sangre como un factor de riesgo cardiovascular. Así, niveles en sangre de vitamina C mayores de 0,2 mg/dl en la población tanto finlandesa como sueca se relacionan con una menor prevalencia de enfermedad cardiovascular. También se ha señalado una menor incidencia de enfermedad cardiovascular en aquellos países en los que se consumen entre 45 y 113 mg/día, con una reducción en dicha incidencia del 45% en hombres y del 25% en mujeres. Es de destacar que existen, por el contrario, estudios en los que no se ha visto asociación entre la ingesta de vitamina C y la enfermedad cardiovascular. Esta controversia nos impide estimar los requerimientos de ingesta de vitamina C específicos para la prevención de enfermedades cardiovasculares.

2.7.2. Cáncer

En la última década se ha prestado un gran interés al papel de la vitamina C en la prevención del

cáncer, sobre todo en aquellos tipos que no son dependientes de hormonas pero que lo son de la dieta, como son el cáncer de mama y el de colon. De acuerdo con diversos estudios epidemiológicos, una ingesta de vitamina C de aproximadamente 300 mg/día disminuye en un 37% el riesgo de sufrir cáncer de mama. No obstante, y al igual que ocurre con otras patologías, siempre hay estudios que contradicen lo anterior y que con ingestas de 500 mg/día no ven asociación entre la vitamina C y el cáncer de mama. Resultados más homogéneos se han encontrado para el cáncer de colon, en el que una ingesta de 60 mg/día puede disminuir en un 30% el riesgo de padecer dicho tipo de cáncer. Otras clases de cáncer donde se han visto potenciales efectos de la vitamina C son los de páncreas, pulmón y estómago. Se ha descrito que el efecto de la vitamina C sobre el cáncer de estómago se debe a su capacidad de inhibir la formación de los compuestos cancerígenos derivados del nitrógeno y a su efecto como secuestrador de los radicales del oxígeno y del nitrógeno generados en la mucosa gástrica.

2.7.3. Cataratas

Estudios epidemiológicos ponen de manifiesto el efecto inhibidor de la vitamina C en el desarrollo de esta enfermedad. Ingestas superiores a 300 mg/día disminuyen el riesgo de desarrollar cataratas en un 75%, comparado con dosis inferiores a 125 mg/día. Aunque muchos estudios sugieren un efecto protector de la vitamina C contra el desarrollo de cataratas, los datos no son consistentes para estimar requerimientos de vitamina C en relación con su formación.

2.7.4. Resfriado común

La mayor parte de los estudios sobre la vitamina C y el resfriado común concluyen que no tiene efecto alguno sobre la incidencia del resfriado aunque se utilicen megadosis (1 g/día). No obstante, sí han encontrado efecto sobre la duración e intensidad de los episodios en algunos grupos de población, gracias a su acción antihistamínica. Sin embargo, se requieren más investigaciones en este campo para conocer la ingesta de vitamina C necesaria para ejercer un efecto en el resfriado común.

3. Vitamina E

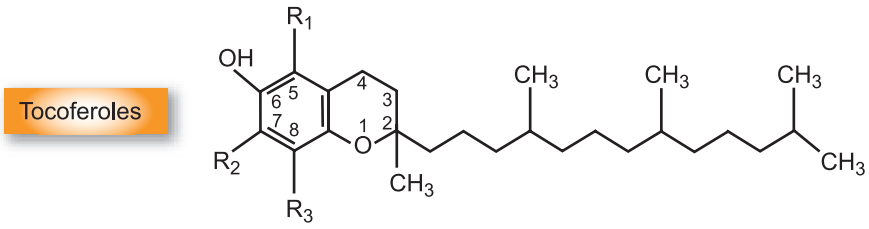
3.1. Estructura química

La vitamina E natural incluye cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles. El RRR-α-tocoferol es la forma más abundante en la naturaleza y la de mayor actividad biológica. El término "vitamina E" se utiliza a menudo para referirse a todos los tocoferoles ("complejo vitamínico E"), pero estrictamente hablando sólo debería aplicarse al α-tocoferol. Todos los tocoferoles **(Figura 3)** derivan del tocol, que consiste en un anillo central de cromanol al que se une una cadena lateral saturada de fitol. Existen ocho tocoferoles distintos que difieren en el número y posición de los grupos metilo unidos al anillo central de cromanol.

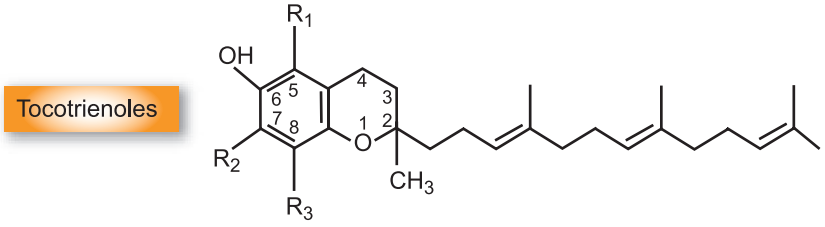
La actividad biológica de la vitamina E en los alimentos depende de la presencia de los distintos tocoferoles. El α-tocoferol es el que tiene la actividad biológica más elevada y, por consiguiente, es el miembro más importante del complejo vitamínico E. Las actividades biológicas (relativas al α-tocoferol) del β-tocoferol, γ-tocoferol y δ-tocoferol son del 30%, 15%, y 1%, respectivamente.

3.2. Absorción y metabolismo

La vitamina E es absorbida en la porción media del intestino delgado en presencia de sales biliares y lipasa pancreática; la absorción depende de la capacidad del individuo para absorber la grasa. Se absorbe aproximadamente el 50% de una ingesta diaria normal (5-15 mg/día). Debido a su hidrofobicidad necesita mecanismos de transporte especiales en el medio acuoso del plasma, fluidos corporales y células. Es transportada en las lipoproteínas plasmáticas y su distribución es paralela a la de los lípidos totales. Después de su absorción intestinal es incorporada a los quilomicrones, los cuales son transportados por vía linfática a la circulación sistémica. Mediante la acción de la lipoproteína lipasa (LPL), parte de los tocoferoles transportados en los quilomicrones son captados por los tejidos extrahepáticos, y los remanentes de quilomicrones transportan el resto de los tocoferoles al hígado. Aquí, mediante la acción de la proteína que transfiere el α-tocoferol, la mayor parte es incorporada a las lipoproteínas de muy baja densidad



R_1	R_2	R_2	
CH_3	CH_3	CH_3	α-tocoferol
CH_3	H	CH_3	β-tocoferol
H	CH_3	CH_3	γ-tocoferol
H	H	CH_3	δ-tocoferol



R_1	R_2	R_2	
CH_3	CH_3	CH_3	α-tocotrienol
CH_3	H	CH_3	β-tocotrienol
H	CH_3	CH_3	γ-tocotrienol
H	H	CH_3	δ-tocotrienol

Figura 3. *Estructura química de los tocoferoles y los tocotrienoles.*

(VLDL) nacientes, mientras que el exceso de α-tocoferol más las otras formas de vitamina E son secretadas en la bilis. Una vez secretadas a la circulación, las VLDL son convertidas en lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y lipoproteínas de baja densidad (LDL) por la acción de la LPL. El exceso de componentes superficiales, inclusive el α-tocoferol, es transferido a las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Junto a la acción de la LPL, la llegada de α-tocoferol a los tejidos tiene lugar mediante la captación de lipoproteínas por parte de éstos, a través de los correspondientes receptores. La vitamina E se almacena mayoritariamente en el tejido adiposo y en el hígado, y se elimina principalmente por la bilis, siendo excretado el resto por la orina.

Aunque en la actualidad existe un gran volumen de información sobre la acción, efectos y metabolismo de la vitamina E, quedan todavía cuestiones por aclarar, de las que una de las más importantes es la interacción con otros antioxidantes, que puede explicar cómo alimentos que contienen pequeñas cantidades de vitamina E proporcionan mayores beneficios que grandes dosis aisladas de vitamina E.

3.3. Propiedades y funciones fisiológicas de la vitamina E

La vitamina E es un antioxidante muy efectivo en la protección de los ácidos grasos insaturados

y otras sustancias fácilmente oxidables. Esta función de protección se ejerce tanto *in vitro* (sobre las grasas, aceites y emulsiones grasas alimenticias) como *in vivo* (protegiendo los lípidos de las membranas y las lipoproteínas). Además, los tocoferoles actúan en el organismo estabilizando otras vitaminas, en particular la vitamina A, así como hormonas y enzimas. Entre las propiedades más destacables de la vitamina E, se encuentran:

a) Estabilización de membranas biológicas. La vitamina E protege la membrana celular, así como las diversas membranas subcelulares, de los efectos de la peroxidación lipídica. Tiene una función de mantenimiento de la estructura de las membranas gracias a la formación de complejos con restos del ácido araquidónico. El efecto estabilizador de la membrana puede ser independiente de su actividad antioxidante.

b) Agregación plaquetaria. La vitamina E interfiere con el metabolismo del ácido araquidónico inhibiendo con ello la síntesis de prostaglandinas y, por consiguiente, la agregación plaquetaria.

c) Hemólisis. El déficit de vitamina E aumenta la susceptibilidad de los eritrocitos a la hemólisis.

d) Efecto sobre actividades enzimáticas. La vitamina E puede inhibir la actividad de la creatinina kinasa y xantina oxidasa, y puede contribuir a proteger varias enzimas de la membrana celular contra la oxidación.

De estas propiedades de la vitamina E se deriva su implicación en distintos procesos patológicos, tales como:

- Cataratas.
- Cáncer.
- Diabetes.
- Alteraciones en la respuesta inmunológica.
- Enfermedad de Alzheimer.
- Fibroplasia retrolenticular en lactantes.
- Anomalías funcionales y morfológicas del sistema neuromuscular.

3.3.1. La vitamina E como antioxidante

La vitamina E es un potente antioxidante capaz de proteger al organismo frente al daño oxidativo celular que producen algunas sustancias y situaciones en distintos órganos y tejidos. Existen muchos metales, como el mercurio, el cadmio o el plomo, que resultan muy tóxicos para el organismo, principalmente para los órganos por los que tienen que pasar para su biotransformación y eliminación, como el hígado y el riñón. Estos órganos están expuestos a un elevado estrés oxidativo. Recientemente, se ha comprobado que la administración combinada de vitamina E y cadmio controla la peroxidación lipídica provocada por el metal, y protege tanto al hígado como al riñón de la toxicidad que provoca su administración en ratas. El α-tocoferol actúa como un potente antioxidante lipofílico y supresor del daño oxidativo en membranas biológicas, lipoproteínas y tejidos, mediante la eliminación de radicales libres, tales como el oxígeno singlete, el radical superóxido y el radical hidroxilo.

El sitio activo de la vitamina E se encuentra en el grupo 6-hidroxilo del anillo cromanol que se sitúa en las membranas cerca de la superficie polar, mientras que la cadena fitilo lo hace junto a los fosfolípidos en su región no polar. El α-tocoferol elimina el radical peroxilo mediante la transferencia de un átomo de hidrógeno:

$$\alpha\text{-TE} + \text{ROO}^{\cdot} \rightarrow \alpha\text{-TO}^{\cdot} + \text{ROOH}$$

Esta reacción ocurre de una forma más rápida de la que pueden reaccionar las proteínas de membrana o los ácidos grasos. Ahora el tocoferol ha perdido un átomo de hidrógeno, convirtiéndose así en el radical tocoferilo (α-TO·). Aunque este radical no es tan reactivo, es reciclado mediante la acción de dos posibles moléculas, el ácido ascórbico y el coenzima Q, mediante las siguientes reacciones.

$$\alpha\text{-TO}^{\cdot} + \text{ascorbato} \rightarrow \text{semideshidroascorbato} + \text{tocoferol-OH}$$

Lo que se supone que ocurre en este caso, y teniendo en cuenta que el ascorbato es hidrosoluble y la vitamina E liposoluble, es que la vitamina E se sitúa en la membrana con la cola fitil estrechamente alineada con las colas grasas de los fosfolípidos y la cabeza cromanol cerca de la superficie de la membrana. De este modo, cuando un radical α-TO· se forma, éste está obligado a proyectarse fuera de la región apolar y situarse en la zona polar interactuando con la vitamina C, que se sitúa en la región acuosa, regenerando la región cromanol de la vitamina E. Otra posible vía de regeneración del radical tocoferilo sería:

α-TO$^{\cdot}$ + $CoQH_2$ → tocoferol-OH + $CoQH^{\cdot}$

El radical es regenerado en la cadena de transporte electrónico de la mitocondria.

Se ha observado que las concentraciones plasmáticas de vitamina E eran inversamente proporcionales a la susceptibilidad a la oxidación *in vitro* de pacientes con diabetes mellitus no dependiente de la insulina. Esta correlación no ha sido observada en individuos sanos. Sin embargo, algunos investigadores han mostrado que la suplementación con una dosis farmacológica de α-tocoferol en sujetos no diabéticos disminuye la susceptibilidad a la oxidación *in vitro* de las LDL.

En cultivos celulares la vitamina E, al igual que las HDL, disminuye la citotoxicidad de las LDL oxidadas (LDLox), y disminuye el daño lisosómico ya que no se altera la estabilidad de las membranas, evitándose así la liberación de las enzimas lisosómicas. Parece fuera de toda duda que la principal función de los tocoferoles es actuar como antioxidantes. Mediante esta oxidación, los tocoferoles protegen a otras moléculas, especialmente a los ácidos grasos poliinsaturados a los que acompañan en las membranas celulares.

Es posible que éste no sea el único mecanismo de acción de los tocoferoles. Sin embargo, esta forma de actuación explica razonablemente bien su efecto protector sobre las membranas de los eritrocitos y de las células nerviosas, que son ricas en ácidos grasos poliinsaturados, y que se afectan especialmente en situaciones de deficiencia del antioxidante.

El mecanismo antioxidante de los tocoferoles supone su destrucción. Por tanto, las necesidades dependerán del nivel de agentes oxidantes, fundamentalmente los radicales libres de oxígeno, de la cantidad de grasa poliinsaturada de la dieta y de la presencia de otros sistemas antioxidantes, como la glutatión peroxidasa, la ceruloplasmina y el ácido ascórbico.

3.3.2. Peroxidación mediada por tocoferol (PMT)

El modelo de PMT predice que el α-TE puede promover la peroxidación lipídica de las LDL mediante las actividades de transferencia de fase y transferencia de cadena.

La actividad de transferencia de fase del α-TE refleja que como la molécula lipídica más abundante y de elevada reactividad en la superficie de las LDL es esta vitamina (más que los hidrógenos bis-alílicos de los lípidos), sería la misma la que con mayor probabilidad reaccionase con radicales acuosos. Por ejemplo, el radical ROO$^{\cdot}$ reacciona 10^5 veces más rápidamente con α-TE de lo que lo hace con los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI). De esta forma, el α-TE hace oxidables los lípidos lipoproteicos y facilita la transferencia de radicales acuosos a la partícula lipoproteica. La importancia de esta actividad de transferencia de fase del α-TE en la promoción de la peroxidación lipídica de las lipoproteínas queda demostrada por el hecho de que las LDL deficientes en α-TE son resistentes a la iniciación de la peroxidación lipídica inducida por varios oxidantes.

Independientemente de que el radical entre a la LDL mediante reacción con el α-TE, el α-TO$^{\cdot}$ es el radical predominante en la lipoproteína oxidada, porque es el más estable termodinámicamente. Debido a su extremo fitilo lipofílico, el α-TO$^{\cdot}$ no puede salir de la lipoproteína. Esto significa que el α-TO$^{\cdot}$ en una emulsión de lipoproteínas no puede realizar reacciones de terminación radical-radical, a menos que un segundo radical entre en la lipoproteína.

La actividad de transferencia de fase del α-TE sólo constituye una reacción protectora, ya que previene la oxidación directa de los lípidos de las lipoproteínas. Sin embargo, es el destino del α-TO$^{\cdot}$ resultante el que determina si la actividad de la vitamina E es pro o antioxidante. La presencia o ausencia de coantioxidantes y la frecuencia de los encuentros entre radicales y partículas LDL (flujo de radicales) es lo que determina el destino del radical α-TO$^{\cdot}$. Bajo condiciones de elevado flujo de radicales son frecuentes las reacciones de terminación radical-radical que implican al α-TO$^{\cdot}$, lo que da lugar a la prevención de la peroxidación lipídica y al consumo del α-TE$^{\cdot}$. Esto explica por qué el α-TE muestra actividad antioxidante cuando las LDL se exponen a elevadas concentraciones de oxidantes.

Sin embargo, bajo condiciones de bajo flujo de radicales, las reacciones de terminación que implican al α-TO$^{\cdot}$ son infrecuentes. Teniendo en cuenta su larga vida media y su imposibilidad de escapar de la partícula de LDL, el α-TO$^{\cdot}$ acaba abstrayendo un hidrógeno bis-alílico e iniciando la peroxidación lipídica. Esta acción representa la actividad de transferencia de cadena, refleja la reactividad finita

del α-TO· y explica por qué la peroxidación lipídica de las LDL ocurre como una reacción de radicales libres en cadena en presencia de la vitamina.

Aunque el modelo de PMT controla la peroxidación lipídica en todas las lipoproteínas plasmáticas humanas que contienen tocoferol, el grado en el que la actividad de transferencia de cadena del α-TO· influye en la peroxidación lipídica depende del tamaño de la partícula lipoproteica implicada, disminuyendo al disminuir el tamaño de la partícula (VLDL > LDL > HDL). Este orden puede mostrar un aumento tanto del área de la superficie de la partícula como del volumen, y el relativo tiempo de residencia del α-TO· en la superficie y el interior de la lipoproteína. Un mayor tiempo de residencia en la superficie aumenta la probabilidad de participación de α-TO· en una reacción de terminación radical-radical que disminuya la actividad de transferencia de cadena y por tanto, la extensión de la peroxidación lipídica.

La PMT representa un nuevo modelo para explicar las acciones moleculares de la vitamina E en el control de la peroxidación lipídica, y justifica muchos hallazgos encontrados *in vitro* inconsistentes con una acción antioxidante de ruptura de cadena de la vitamina E; por ejemplo, PMT proporciona una explicación plausible de por qué se pueden acumular cantidades sustanciales de lípidos oxidados en presencia de niveles normales de α-TE en las lesiones humanas. En concordancia con estos hallazgos, también se ha puesto de manifiesto que los isómeros *cis/trans* del α-TE predominan sobre otros productos en las lesiones humanas a nivel de aorta, carótida y lipoproteínas. Además, la suplementación dietética con vitamina E en conejos, tras daño arterial, aumenta de forma significativa en la aorta los niveles de α-TE y el contenido total de isómeros *cis/trans*. Estos datos están de acuerdo con la acción del α-TE de donación de átomos de hidrógeno durante la oxidación lipídica *in vivo*, lo que sugiere que éste no previene la oxidación de los lípidos lipoproteicos en la pared vascular.

El modelo de PMT también explica por qué la actividad antioxidante se ve aumentada e incluso depende de la presencia de coantioxidantes. Éstos actúan conjuntamente con el α-TE y su deficiencia, más que la del α-TE sólo, parece ser la responsable de la lipoperoxidación. Se han identificado varios coantioxidantes, incluyendo compuestos de la dieta, tales como ubiquinol 10 ($CoQ_{10}H_2$), α-tocoferilhidroquinona, ascorbato, bilirrubina y el metabolito del triptófano, el ácido 3-hidroxiantranílico.

3.4. Requerimientos nutricionales y valores fisiológicos normales

Una ingesta oral diaria de 12 a 15 mg equivalentes de α-tocoferol se considera esencial para mantener concentraciones plasmáticas normales de vitamina E en un adulto sano. Esta necesidad aumenta al incrementar la ingesta nutricional de AGPI (0,6-1,8 mg de α-tocoferol por 1 g de ácidos grasos poliénicos), al aumentar la edad y en una gran variedad de estados patológicos. Los valores de ingestas recomendadas para la vitamina E se detallan en la **Tabla 4** por edades y sexos.

Una ingesta inadecuada o un aumento del catabolismo conducen a una disminución marcada de la concentración plasmática de vitamina E. El intervalo normal de las concentraciones de tocoferol en plasma se sitúa entre 0,7 y 1,6 mg/dl. Valores por debajo de 0,4 mg/dl indican un déficit de vitamina E. Algunas veces las concentraciones plasmáticas también se expresan en relación con los lípidos séricos (como mg de vitamina E/g de lípidos totales).

La relación con los lípidos séricos es importante, ya que pacientes con hipolipidemia y niveles bajos de vitamina E, por ejemplo, no presentan necesariamente un estado carencial de vitamina E, mientras que un déficit de vitamina E no puede excluirse en individuos con hiperlipidemia y concentraciones plasmáticas elevadas de vitamina E (el déficit de vitamina E existe a concentraciones séricas de vitamina E menores de 0,8 mg de α-tocoferol/g de lípidos plasmáticos).

Concentraciones reducidas de tocoferol en plasma están siempre asociadas a una reducción paralela de la resistencia osmótica de los eritrocitos a agentes oxidantes como el peróxido de hidrógeno o el ácido dialúrico. En caso de déficit importante, la disminución de la resistencia puede alcanzar el 100%. Sin embargo, sólo aparecen reducciones marcadas en la resistencia de los eritrocitos cuando las concentraciones plasmáticas de tocoferol descienden por debajo de 0,4 mg/dl. Tasas de hemólisis de hasta el 10% todavía están dentro del intervalo normal, mientras que niveles superiores al 25% ya indican un déficit significativo de vitamina E.

Tabla 4. INGESTAS RECOMENDADAS DE VITAMINA E PARA DISTINTAS EDADES Y SEXOS

Edad	Ingestas diarias recomendadas (mg/día)
0-6 meses	4
7-12 meses	5
1-3 años	6
4-8 años	7
Hombres	
9-13 años	11
14-18 años	15
19-30 años	15
31-50 años	15
50-70 años	15
> 70 años	15
Mujeres	
9-13 años	11
14-18 años	15
19-30 años	15
31-50 años	15
50-70 años	15
> 70 años	15
Embarazo	
< 18 años	15
19-30 años	15
31-50 años	15
Lactancia	
< 18 años	19
19-30 años	19
31-50 años	19

Fuente: The National Academy of Sciences. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids, *2000. www.nap.edu/openbook/0309069351/html/96.html*

Con niveles plasmáticos de vitamina E de 0,5 mg/dl, que se encuentran en el punto más bajo del rango normal, se han observado hemólisis y disminución de la vida de los glóbulos rojos.

3.5. Deficiencias y estados carenciales

La mayoría de los síntomas de déficit de vitamina E están claramente relacionados con la falta de la protección antioxidante que proporciona esta vitamina. Ésta es la conclusión que se obtiene de numerosos estudios con animales que han mostrado que otros antioxidantes pueden suplir a la vitamina E en la mayoría de sus funciones. En estudios realizados con animales, el déficit de vitamina E causa una variedad de cambios orgánicos histológicos, distrofia muscular, formación de pigmento lipoide, anemia, metabolismo disminuido de la creatinina, disminución de la respuesta inmunológica y reducción de la fertilidad. A escala celular, el déficit de tocoferol causa una permeabilidad aumentada de las membranas lisosómicas y un flujo de salida aumentado de enzimas lisosómicos.

Las condiciones que interfieren con la digestión normal, absorción o transporte de grasa dietética se han relacionado con niveles bajos de vitamina E sérica. Las concentraciones séricas de vitamina E pueden estar un 20% por debajo de lo normal en pacientes con síndromes de malabsorción, tales como enfermedad celiaca, atresia biliar y fibrosis quística.

En condiciones nutricionales normales casi nunca se observan estados deficitarios de vitamina E en individuos sanos. Los estados carenciales de vitamina E más graves se observan en la abetalipoproteinemia: en esta enfermedad, los quilomicrones y las LDL están casi ausentes en el suero debido a una carencia genética de la fracción de apolipoproteína B. Estas lipoproteínas actúan como portadores de los compuestos lipofílicos, incluyendo la vitamina E. Los pacientes con este trastorno presentan esteatorrea masiva y desarrollan retinopatía progresiva y neuropatía atáxica. La administración oportuna de dosis orales elevadas de vitamina E pueden a la vez prevenir las manifestaciones clínicas y aliviar cualquier alteración hematológica y neurológica ya existente.

La disfunción neurológica en los adultos con deficiencia de vitamina E generalmente es el resultado de una malabsorción de grasa y vitamina E durante 10-20 años, y demuestra la importancia de esta vitamina en el desarrollo y mantenimiento óptimos de la función e integridad del sistema nervioso y del músculo esquelético. En los niños deficientes en vitamina E los síntomas se desarrollan dentro de los primeros 18-24 meses. Se ha demostrado que la función neurológica mejora con la terapia adecuada con vitamina E, y el daño neurológico progresivo puede prevenirse en los niños con enfermedad co-

Tabla 5. ALIMENTOS RICOS EN VITAMINA E

Alimento	mg/100 g de porción comestible
Aceite de germen de trigo	215
Pepitas de girasol	49
Aceite de girasol	48
Aceite de hígado de bacalao	21
Aceite de oliva virgen	20
Mayonesa	17
Harina de maíz	13
Nueces, pistachos, cacahuetes	8
Margarina	8
Atún, bonito, caballa en aceite	7

lestática prolongada mediante la terapia con vitamina E durante los primeros años de vida.

La evidencia clínica de que la deficiencia de vitamina E puede mejorarse mediante la administración de dicha vitamina se ha documentado en individuos con síndrome de malabsorción crónica, recién nacidos pretérmino y pacientes con nutrición parenteral total.

También se han observado estados carenciales clínicamente manifiestos de vitamina E en pacientes con hepatitis crónica activa y después de resecciones intestinales extensas (p. ej., por enfermedad de Crohn).

La fibrosis quística en adultos puede estar asociada a cambios neurológicos graves y a una ausencia casi total de vitamina E en suero. Ya que tanto la inyección intramuscular de vitamina E como la administración oral de una mezcla de vitamina E con ácidos biliares han producido una mejora del estado neurológico, el déficit de vitamina E debe considerarse como la causa del metabolismo neural disminuido. Al igual que ocurre con otros componentes lipofílicos del quimo, la absorción de vitamina E se encuentra gravemente limitada en pacientes con cirrosis biliar primaria. En contraste con los niños, en los que la colestasis crónica evoluciona a un déficit de vitamina E en el 50-75% de los casos, dicho déficit se observa mucho más raramente en los adultos debido a la presencia de depósitos corporales. Cuando estos depósitos se agotan, los pacientes adultos también corren el riesgo de padecer un déficit clínico de vitamina E.

En cuanto a su toxicidad, la vitamina E está clasificada como una sustancia prácticamente no tóxica. Una dosis por debajo de los 1.000 mg/día es segura y está libre de efectos secundarios. No se han observado hipervitaminosis ni siquiera después de la administración de dosis elevadas durante muchos años. Además, la administración de suplementos de vitamina E presenta un amplio intervalo terapéutico.

3.6. Fuentes alimentarias

La vitamina E está ampliamente distribuida en la naturaleza. Como fuentes alimentarias ricas en dicha vitamina pueden citarse los aceites vegetales (soja, maíz, oliva, semilla de algodón y cártamo), los productos derivados de estos aceites (margarina y mayonesas), el germen de trigo, las nueces y otros cereales. En las plantas se localiza en las hojas y partes verdes, y en los animales en el tejido adiposo. En la **Tabla 5** se presentan los alimentos ricos en vitamina E.

3.7. Vitamina E y salud

3.7.1. Vitamina E y enfermedad cardiovascular

Varios estudios sobre la enfermedad cardiovascular se han centrado en el efecto de la suplementación con vitamina E en dicha patología, si bien no está totalmente determinado el potencial de dicha vitamina en la atenuación e incluso en la prevención de la aterosclerosis. La posible aplicación de la vitamina E en la enfermedad cardiovascular está basada en su potente acción antioxidante en los ambientes lipídicos. Estudios humanos han demostrado que la administración de suplementos

orales de vitamina E aumenta la resistencia de las LDL a la oxidación, y varias investigaciones han sugerido que una ingesta dietética adecuada, y/o la administración de un suplemento, pueden aumentar la concentración de colesterol HDL.

Sin embargo, muchos de los resultados de estudios y ensayos en humanos y animales no muestran efecto alguno de la vitamina E en la prevención de la aterosclerosis, independientemente del posible efecto protector de dicha vitamina relacionado con la prevención de la oxidación de las LDL y otras funciones no antioxidantes, tales como su actividad antiinflamatoria, la inhibición de la proliferación de las células musculares lisas o la inhibición de la agregación plaquetaria.

Otros datos sugieren que el α-TE (la forma más activa de la vitamina E), por sí solo, no es eficaz en la prevención de los procesos oxidativos *in vivo*, siendo crucial el balance entre la vitamina E y los coantioxidantes (que pueden proceder de la dieta) para que el α-TE muestre actividad prooxidante o antioxidante. Asimismo, existen resultados que ponen de manifiesto que no se produce deficiencia de vitamina E durante el proceso aterosclerótico, que el α-TE se oxida de forma mínima en las lesiones *in vivo*, y que la lipoperoxidación a nivel de la íntima tiene lugar en presencia de α-TE. Todos estos resultados pueden explicar la ambivalencia de la suplementación con vitamina E y otros antioxidantes en el manejo de la aterosclerosis.

Los estudios en animales y los datos epidemiológicos sugieren que la disminución en la protección antioxidante puede incrementar el riesgo de aterosclerosis, y que el incremento en el consumo de nutrientes antioxidantes puede tener un papel en la prevención de la enfermedad cardiaca coronaria. Sin embargo, ensayos clínicos recientes utilizando el principal antioxidante liposoluble de la dieta, la vitamina E, han proporcionado resultados ambiguos que indican un efecto beneficioso, o adverso, o incluso ausencia de efecto de dicha vitamina, en pacientes con enfermedad cardiovascular.

En muchos estudios con animales la vitamina E ha demostrado disminuir la aterosclerosis; sin embargo, cuando se administra a dosis farmacológicas es ineficaz. Los problemas con la suplementación de vitamina E por sí sola, al parecer, se deben a una corregulación del metabolismo o la absorción de los suplementos de antioxidantes. Por ejemplo, la suplementación con vitamina E disminuye los niveles plasmáticos de ubiquinol-10. Incluso dosis elevadas de vitamina E no mostraron actividad antioxidante en individuos sanos. Es posible que cuando otros antioxidantes son insuficientes, la vitamina E pueda actuar como prooxidante y, bajo las circunstancias adecuadas, la suplementación con elevadas dosis de vitamina E podría promover, más que reducir, la peroxidación lipídica o garantizar el efecto de otros antioxidantes.

3.7.2. Vitamina E y cáncer

Es conocido que el desarrollo del cáncer está influenciado por factores hereditarios y factores ambientales. Aproximadamente el 80% de todos los tipos de cáncer humanos presentan factores medioambientales, entre los que la dieta desempeña un papel muy importante (*ver Capítulo 4.40*). Tanto en los procesos de iniciación del cáncer como durante su desarrollo participan los radicales libres. Estudios epidemiológicos demuestran que tanto la vitamina E como otros antioxidantes de la dieta alteran la incidencia y crecimiento del algunos tumores gracias a su acción como secuestradores de radicales libres y sus productos. Se ha observado que aumenta el riesgo de padecer cáncer en aquellos individuos con concentraciones plasmáticas de vitamina E bajas, encontrando mayor riesgo en hombres para el cáncer de pulmón y en mujeres para el de mama. Otro tipo de cáncer muy influenciado por la dieta es el de colon, en donde la vitamina E tiene un papel importante. Existen trabajos en los que se describe que individuos con alta ingesta de vitamina E tenían un 68% menos de riesgo de padecer cáncer de colon. Todos los estudios concluyen que han de realizarse más estudios epidemiológicos en este campo para evaluar y confirmar el papel de los antioxidantes en la prevención del cáncer.

3.8. Análogos de la vitamina E

3.8.1. α-tocoferil succinato

Al estudiar las diversas actividades biológicas de varios análogos de la vitamina E se ha visto que el α-tocoferil succinato (α-TES) posee cualidades para calificarlo como un agente de múltiples acciones.

Al contrario que el α-TE, no tiene propiedades redox debido a la sustitución del grupo hidroxilo. La presencia del grupo succinilo le confiere actividad proapoptótica, que es muy específica para las células malignas. Esta actividad requiere que el compuesto esté intacto, y las células malignas, incluso, parecen ser incapaces de hidrolizar de forma significativa el éster. Por el contrario, ciertas células normales, incluyendo hepatocitos y células epiteliales intestinales, tienen una actividad esterasa relevante. En cuanto a los mecanismos por los que el succinato de vitamina E dispara la apoptosis, hay, al menos, dos rutas moleculares no relacionadas responsables de este hecho, una asociada al efecto desestabilizador de membrana de la unidad succinilo y la otra asociada con la modulación de señales celulares por la unidad tocoferilo.

Tras alcanzar la circulación, α-TES se asocia con las lipoproteínas, que lo transportan hasta la microvasculatura del tumor donde desarrolla su actividad antineoplásica. De forma eventual, las lipoproteínas son eliminadas al atravesar el hígado, donde α-TES es hidrolizado por esterasas competitivas. El producto resultante, α-TE, es secretado en parte en la bilis e incorporado en parte en las VLDL nacientes que son resecretadas a la circulación. Esto da lugar al enriquecimiento del suero y los tejidos con α-TE, aumentando por tanto las defensas antioxidantes.

A pesar de la actividad proapoptótica documentada del α-TES no se sabe si esto se traduce en una potencial eficacia antineoplásica. Los resultados han demostrado que el análogo succinilo es mucho más selectivo inhibiendo el crecimiento tumoral que la vitamina E, posiblemente debido al hecho de que el α-TE es incapaz de inducir apoptosis.

Por otro lado, el α-TE inhibe la ciclooxigenasa 2, una enzima crucial en la formación de prostaciclinas, que son potentes factores angiogénicos. Estas formas de acción aumentarían el potencial antineoplásico general de los análogos de la vitamina E, si éstos inhibiesen el crecimiento del tumor mediante la supresión de la angiogénesis, además de acciones proapoptóticas directas sobre las células malignas.

La evidencia experimental demuestra el hecho de que α-TES o potencialmente sus derivados, con al menos dos potentes actividades biológicas, tienen un alto potencial terapéutico.

3.8.2. Derivado hidrosoluble de la vitamina E (TMG)

Se ha evaluado la capacidad de este derivado [(2-α-D-glucopiranosil)metil-2,5,7,8-tetrametil croman-6-ol,TMG] para inhibir el desarrollo de aterosclerosis en conejos hiperlipidémicos (conejos Watanabe con hiperlipidemia hereditaria) y conejos alimentados con una dieta rica en colesterol (conejos New Zealand White), con los siguientes resultados: aunque TMG pasó rápidamente a la circulación tras administración oral, la concentración sanguínea permaneció baja, mientras que ni TMG ni sus metabolitos aparecieron en la fracción de LDL. TMG no disminuyó el colesterol sérico total ni el asociado a las fracciones lipoproteicas, aunque sí redujo la concentración sérica de TBARS en los conejos alimentados con una dieta rica en colesterol, pero no en los hiperlipidémicos; la inhibición de la peroxidación lipídica en este modelo puede explicarse parcialmente por los datos obtenidos previamente *in vitro*, que muestran una importante actividad antioxidante de este derivado en la interfase acuosa/oleosa, a pesar de no localizarse en las LDL. No obstante, TMG inhibió la aterosclerosis a nivel aórtico con igual efectividad que el probucol, en ambos modelos.

Los resultados indican que TMG se opone a la progresión de la aterosclerosis no sólo impidiendo la oxidación de las LDL, sino por otros mecanismos desconocidos; además, muestran cómo la aterosclerosis se puede prevenir de manera eficaz inhibiendo el cambio oxidativo en la superficie de las LDL, incluso sin inhibir la oxidación dentro de dichas partículas.

En resumen, el derivado hidrosoluble de la vitamina E, TMG, puede proteger contra el desarrollo experimental de aterosclerosis en conejos, a bajas concentraciones séricas, de lo que se deduce una posible y considerable actividad antiaterogénica de los antioxidantes hidrosolubles.

3.8.3. γ-tocoferol (γ-TE)

El α-TE es cuantitativamente la forma principal de la vitamina E en humanos y animales y ha sido estudiado ampliamente. Sin embargo, en contraste con la presunción de que el γ-TE no es importante porque no se alcanzan las mismas concentraciones

corporales que de α-TE, recientes estudios han demostrado importantes propiedades del γ-TE para la salud humana no compartidas por el α-TE. Las cualidades que diferencian a ambas formas son resultado de su distinta reactividad química, metabolismo y actividad biológica.

El γ-TE parece ser más efectivo en la neutralización de compuestos electrófilos lipofílicos que el α-TE. Además, el γ-TE muestra una buena absorción, acumulándose de forma significativa en algunos tejidos humanos; se metaboliza, sin embargo, ampliamente hasta 2,7,8-trimetil-2-(γ-carboxietil)-6-hidroxicromano (γ-CEHC), que es excretado principalmente por orina. El γ-CEHC, pero no el metabolito correspondiente derivado del α-TE, presenta actividad natriurética, lo que puede ser importante fisiológicamente.

Tanto el γ-TE, como su metabolito γ-CEHC, inhiben la actividad ciclooxigenasa, lo que les confiere propiedades antiinflamatorias. Algunos estudios en humanos y animales indican que las concentraciones plasmáticas de γ-TE están inversamente relacionadas con la incidencia de enfermedad cardiovascular y cáncer. Estas posibilidades deberían ser evaluadas, considerando especialmente que elevadas dosis de α-TE deplecionan los niveles plasmáticos y tisulares de γ-TE, en contraste con la suplementación con γ-TE, que aumenta los de ambas formas.

3.9. Eficacia de la vitamina E natural frente a la sintética

La vitamina E de origen natural (RRR-α-tocoferol o d-α-tocoferol) que proviene de los aceites vegetales es un estereoisómero simple. La vitamina E sintética (all-rac-α-tocoferol, también conocido como dl-α-tocoferol) es una mezcla de estereoisómeros que se produce comercialmente uniendo trimetilhidroquinona con isofitol. Esta reacción química produce una mezcla difícil de separar de ocho isómeros, siendo sólo uno de ellos el d-α-tocoferol. Los otros siete isómeros tienen diferentes configuraciones moleculares, todas con actividad biológica más baja que la del d-α-tocoferol.

En función de bioensayos realizados en animales y en estudios con humanos, se ha demostrado que la potencia biológica de las formas naturales de la vitamina E es mayor que la de las formas sintéticas.

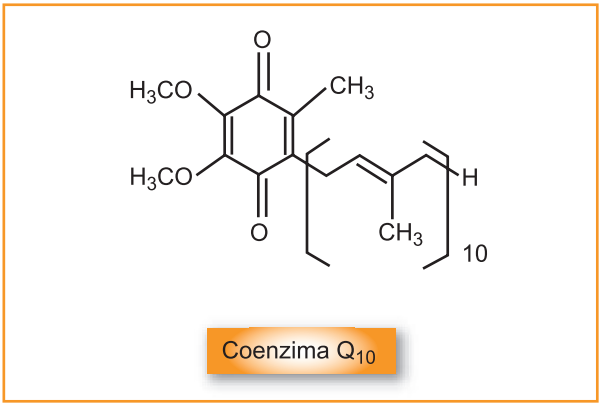


Figura 4. *Estructura química del coenzima Q_{10}.*

La investigación adicional sugiere que los pulmones, los glóbulos rojos, el plasma sanguíneo y el cerebro, muestran retención preferencial de la vitamina E de origen natural en comparación con uno de los isómeros de la forma sintética. Las diferencias fisiológicas entre la vitamina E natural y sintética se relacionan con la retención preferencial del d-α-tocoferol sanguíneo y tisular, en comparación con los otros tocoferoles.

Los últimos estudios realizados en humanos usando tocoferol marcado con deuterio (^2H) han demostrado que la proporción de la biodisponibilidad entre la vitamina E de origen natural y la sintética es aproximadamente de 2:1. En un estudio realizado en seis sujetos, el acetato de vitamina E de origen natural, cuando se dio competitivamente, originó concentraciones de vitamina E plasmática dos veces más altas que el acetato de vitamina E sintética. En otro estudio realizado en siete mujeres que recibieron diariamente suplementos de vitamina E durante tres periodos individuales de 28 días cada uno, la biodisponibilidad de la vitamina E de origen natural administrada a dosis de 100 mg/día fue similar a la del acetato de vitamina E sintética administrado a dosis de 300 mg/día.

Usando una concentración equimolar de acetato de vitamina E marcada con deuterio de origen natural y sintética, la relación entre la forma natural y sintética en el plasma varió de 1,5 a 1,8 durante 8 días de suplementación en voluntarios sanos y se incrementó a 2,0 después de terminada la suplementación. Sobre la base de los resultados de los estudios, los investigadores concluyeron que la biodisponibilidad de la vitamina E sintética es aproximadamente la mitad de la de la vitamina E de origen natural.

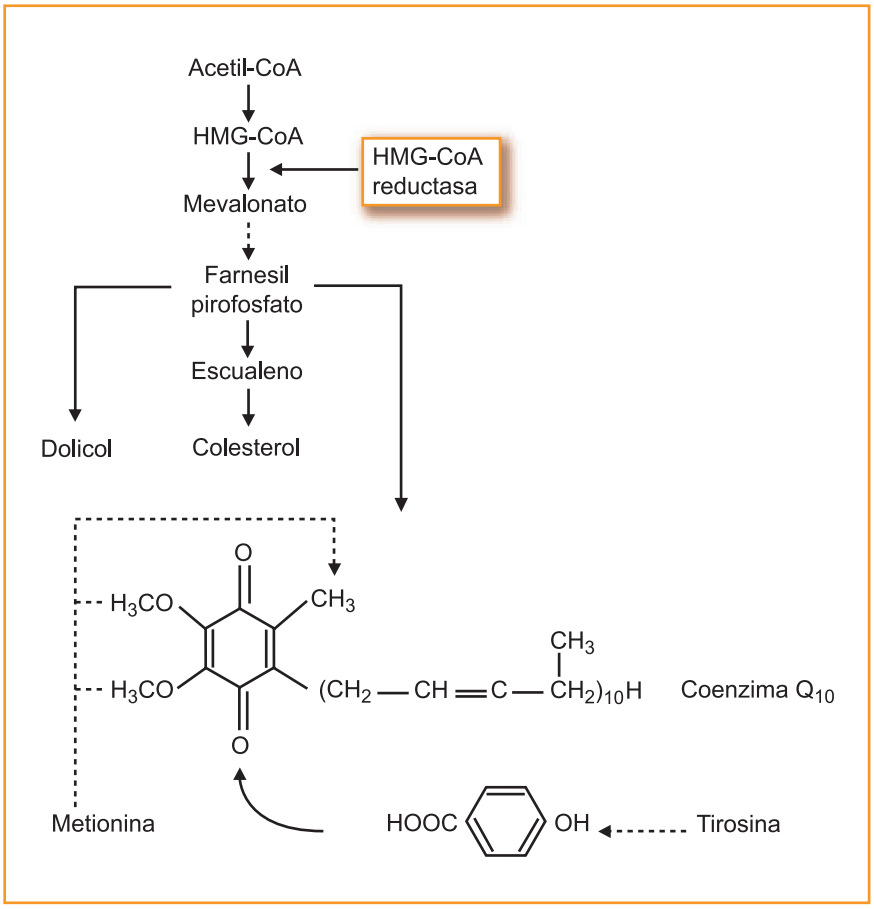


Figura 5. *Esquema de la síntesis endógena del coenzima Q_{10} a partir de acetil-CoA, metionina y tirosina.*

Se trata desde el punto de vista químico de un lípido. La letra Q hace referencia a su grupo quinónico, mientras que el número 10 representa el número de unidades isoprenoides en su cadena lateral. La forma predominante en humanos y en la mayoría de los mamíferos es la de coenzima Q_{10}, esto es, el grupo quinona con 10 isoprenoides. También hay presente en menor cantidad la forma de coenzima Q_9 (aprox. en una relación 1 a 10). En la rata, por ejemplo, la forma 9 es la predominante.

El CoQ_{10} puede provenir de la dieta o bien formarse mediante síntesis endógena. En el caso de síntesis endógena, el anillo proviene del aminoácido tirosina mientras que la cadena poli-isoprenoide se forma utilizando acetil CoA como material de inicio **(Figura 5)**. Esta ruta, que va hacia el mevalonato y sus posteriores intermediarios, es común con la del colesterol. De hecho, el colesterol, el dolicol y el CoQ_{10} son los productos finales de esta importante ruta biosintética, que está bajo el control de la enzima hidroxi-metil-glutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa). Los inhibidores de esta enzima ejercen un importante control de represión de la formación de CoQ_{10} y de su presencia en sangre.

4. Otros antioxidantes de origen alimentario

4.1. Coenzima Q_{10}

4.1.1. Estructura química

En 1957 Crane aisló un compuesto amarillo a partir de corazón de vaca. Posteriormente, Karl Folkers determinó su estructura, la 2,3-dimetoxi-5-metil-6-decaprenil-1,4-benzoquinona **(Figura 4)**. El compuesto fue llamado coenzima Q_{10} (CoQ_{10}), debido a que presentaba una actividad coenzimática en los sistemas enzimáticos mitocondriales. Morton, que también contribuyó al aislamiento de la molécula, le dio el nombre de "ubiquinona", debido a su difusión ubicua en los organismos vivos.

4.1.2. Localización y niveles tisulares

El coenzima Q posee carácter lipofílico, y por tanto se halla en el organismo en este tipo de entornos. Su principal localización es en las membranas. Aunque puede ser hallada en membranas celulares tales como la del eritrocito o las del resto de las células del organismo, es en la membrana interna mitocondrial donde tiene su principal localiza-

ción. Por otro lado, también se hallan niveles elevados de la molécula en la LDL, formando parte del cuerpo lipídico de la partícula.

En sangre, los niveles varían desde 35 µg/dl a 149 µg/dl, dependiendo de la población investigada y de su estado de salud. Factores reconocidos que afectan a dichos niveles son el grado de envejecimiento, la realización de ejercicio físico y el grado de entrenamiento, los hábitos alimentarios, enfermedades cardiovasculares y otras patologías de diversa índole. En las LDL los valores habitualmente observados están entre los 0,35 y 0,6 µg/mg de proteína.

En cuanto a los diferentes órganos y tejidos, es en corazón donde probablemente se hallan, proporcionalmente, los mayores niveles de coenzima Q de todo el organismo. Así, se puede estar hablando de niveles de entre 37 y 110 µg/g de órgano fresco. En el hígado, se hallan valores de entre 12 y 60 µg/g de órgano fresco. En músculo esquelético, hay niveles próximos a los 30 µg/g y en cerebro de 10 a 15 µg/g.

4.1.3. Propiedades y funciones fisiológicas

Además de su papel como transportador de electrones, el coenzima Q tiene un importante protagonismo como antioxidante de membrana, papel este último que ha ido ganando importancia en los últimos años, como lo demuestra el gran número de estudios realizados *in vivo* e *in vitro* a muy diferentes niveles, tales como en vesículas de fosfolípidos, membranas reconstituídas, partículas submitocondriales, mitocondrias, microsomas, células intactas, animales intactos, así como también observaciones clínicas. Desde el punto de vista del presente Capítulo la acción antioxidante es la que más interesa y, por tanto, la que se va a tratar.

Las primeras observaciones fueron realizadas por Lea y Kwietny, y Mellors y Tappel; demostraron que el CoQ_6H_2 era considerablemente más potente que su forma oxidada como inhibidor de la peroxidación lipídica catalizada por hemoglobina en emulsiones de ácido araquidónico, y que el quinol, en este sistema, era tan eficaz como el α-tocoferol. Un soporte adicional para una función antioxidante del CoQ reducido lo han dado Booth *et al.*, quienes han descrito que la forma reducida es un inhibidor efectivo de la peroxidación inducida por el sistema ascorbato-Fe^{2+} en liposomas de fosfatidilcolina de yema de huevo.

En estudios sobre la peroxidación lipídica en partículas submitocondriales de las cuales habían extraído el CoQ y posteriormente se la había reincorporado en varias concentraciones conocidas, se vio que la oxidación del succinato se inhibía de forma directamente proporcional con la reincorporación de CoQ. Estos autores, en estudios adicionales, han aportado evidencias en favor de un mayor papel antioxidante de la forma reducida del coenzima Q frente a la forma oxidada. Prepararon liposomas de lípidos mitocondriales dentro de los cuales incorporaron diversas concentraciones de CoQ; los liposomas fueron incubados con partículas submitocondriales, NADH y rotenona, condiciones previas para sufrir peroxidación lipídica. Las observaciones apuntan de nuevo hacia una inhibición de la peroxidación de forma proporcional al grado de reincorporación de CoQ.

En adición a su efecto sobre los sistemas de la membrana mitocondrial, se ha visto que el CoQ interfiere en la peroxidación lipídica catalizada por microsomas oxidados de hígado de rata. Se han derivado evidencias adicionales del efecto del CoQ como antioxidante a partir de la demostración de la regulación por CoQ de la peroxidación lipídica catalizada por microsomas y mitocondrias aisladas de ratas tratadas con CCl_4 y etanol. Estudios empleando mitocondrias de corazón de vaca parcialmente deplecionadas en CoQ por extracción con pentano han hallado que la peroxidación lipídica inducida por un complejo adriamicina-hierro era mayor que cuando el CoQ se reincorporaba.

Algunos estudios con animales de experimentación han puesto de manifiesto la implicación del CoQ al modificar el nivel de peroxidación inducida por la adriamicina (una antraciclina empleada en la quimioterapia antineoplásica y caracterizada por la gran capacidad de generación de radicales libres como uno de sus efectos secundarios) y/o manipulación dietética sobre la grasa. En un experimento acerca de lo anterior sobre el contenido en MDA, CoQ_9 y CoQ_{10} en mitocondrias de hígado, el aceite de maíz de la dieta, altamente poliinsaturado, daba lugar a un grado de peroxidación lipídica muy superior a los correspondientes obtenidos con las dietas ricas en aceite de oliva virgen. Por su parte, el tratamiento con adriamicina indujo en ambos grupos los niveles más altos de peroxidación lipídica, junto a un descenso en los niveles de

CoQ_9 y CoQ_{10}; tener en cuenta que para la dieta rica en aceite de maíz se partía de niveles superiores de CoQ_9, la especie predominante de esta molécula en la rata. Los autores se reafirman en la hipótesis de que las ratas sintetizan más CoQ cuanto más peroxidable es el sustrato que se halla presente, como es el caso de la grasa poliinsaturada del aceite de maíz.

Otros autores han puesto de manifiesto un efecto protector del coenzima Q sobre membranas biológicas: cuando el coenzima Q era extraído previamente, la exposición de estas membranas mitocondriales al daño oxidativo producido por radiación γ daba lugar a una importante pérdida de sus ácidos grasos poliinsaturados. Los mismos autores ensayaron también el efecto protector del coenzima Q cuando lo adicionaban exógenamente a cultivos celulares: la supervivencia de las células frente a un daño oxidativo fue el doble cuando en el medio había CoQ. Los efectos antiperoxidativos del CoQ han sido también estudiados en liposomas expuestos a un daño por radicales libres, y en micelas de ácidos grasos poliinsaturados sometidas a una autooxidación termal.

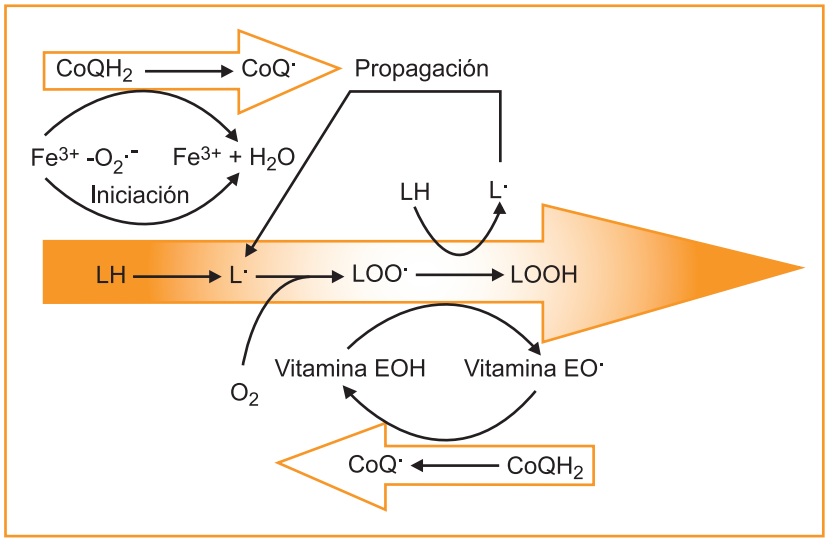


Figura 6. *Mecanismos antioxidantes del coenzima Q_{10} en las fases de iniciación y propagación en la formación de radicales libres y sobre el radical tocoferilo de la vitamina E.*

Los mecanismos por los cuales el CoQ, principalmente en su forma reducida, actúa como un antioxidante permanecen ocultos. Existen varias posibilidades **(Figura 6)**. El CoQ reducido puede reaccionar con iones ADP-perferrilo, como han sugerido diversos autores:

$$\mathbf{ADP\text{-}Fe^{3+} + O_2^{\cdot -} + CoQH_2 \rightarrow ADP\text{-}Fe^{2+} + H_2O_2 + CoQ^{\cdot -}}$$

El peróxido de hidrógeno podría ser eliminado por la catalasa, peroxidasa, o glutation peroxidasa. Alternativamente, el $CoQH_2$ podría reaccionar directamente con el superóxido como un destructor o *quencher* de radicales libres:

$$\mathbf{2O_2^{\cdot -} + CoQH_2 \rightarrow H_2O_2 + O_2 + CoQ^{\cdot -}}$$

interfiriendo, así, en la iniciación de la peroxidación lipídica. El CoQ reducido podría también reaccionar con radicales libres lipídicos o peroxilipídicos:

$$\mathbf{2\,L^{\cdot} + CoQH_2 \rightarrow 2\,LH + CoQ^{\cdot -}}$$

$$\mathbf{2\,LOO^{\cdot} + CoQH_2 \rightarrow 2\,LOOH + CoQ^{\cdot -}}$$

previniendo, de este modo, la propagación de la peroxidación lipídica.

Otro posible modelo para explicar la capacidad antioxidante del $CoQH_2$ se deriva de las observaciones de Cadenas *et al.* acerca de que la superóxido dismutasa (SOD) puede interactuar con varias hidroquinonas y junto a la acción de la DT-diaforasa, enzima que cataliza la transferencia de dos electrones desde el NADH o NADPH a quinonas para producir un quinol, una molécula relativamente estable, prevenir así la formación de la semiquinona y la subsiguiente producción de radicales libres.

Se propone, así, una nueva actividad para la SOD, una como $O_2^{\cdot -}$ semiquinona oxidorreductasa, en que $SOD\text{-}Cu^{2+}$ podría reducirse por el $O_2^{\cdot -}$, seguido de una oxidación de la $SOD\text{-}Cu^{+}$ por un intermediario semiquinona:

$$\mathbf{SOD\text{-}Cu^{2+} + O_2^{\cdot -} \rightarrow SOD\text{-}Cu^{+} + O_2}$$

$$\mathbf{SOD\text{-}Cu^{+} + Q^{\cdot -} \rightarrow SOD\text{-}Cu^{2+} + Q^{2-}}$$

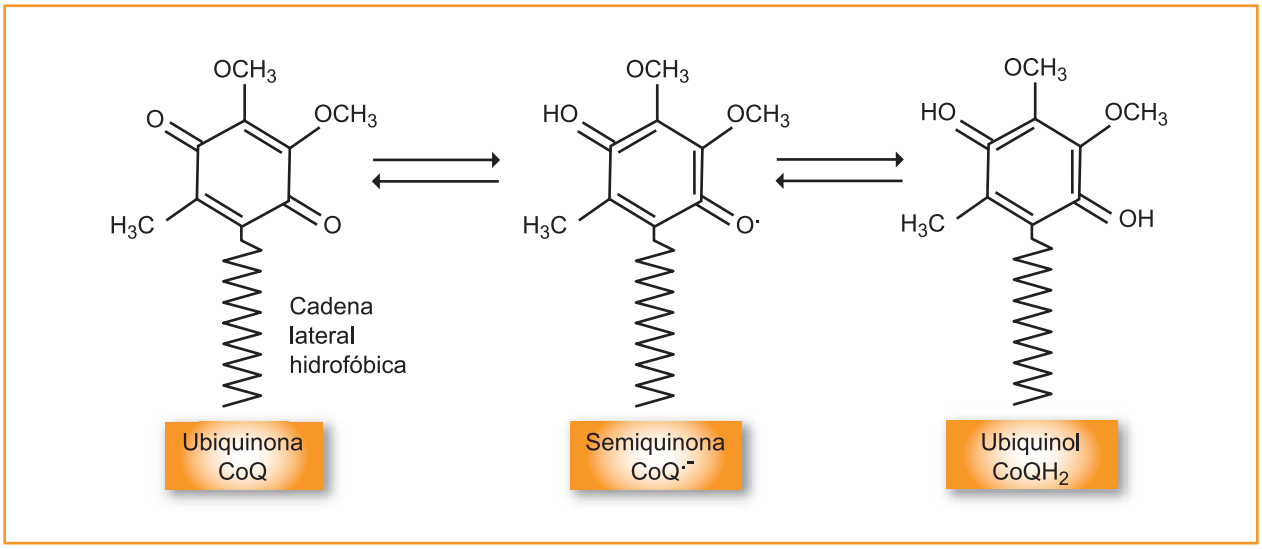
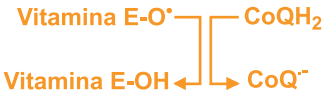


Figura 7. *Conjunto de reacciones reversibles por las que se transforma la forma oxidada (CoQ) en reducida ($CoQH_2$) y viceversa.*

Otro mecanismo por el cual el ubiquinol ejerce su acción antioxidante sugiere que el CoQ reducido regenera el α-tocoferol, la forma activa de la vitamina E, reduciendo el radical α-tocoferilo:



En estas reacciones se forma el radical ubisemiquinona, cuya presencia en la cadena respiratoria mitocondrial se conoce desde hace unos 20 años. La ubisemiquinona se estabiliza a través de su unión a unas proteínas especiales llamadas proteínas Q. La presencia de SOD y catalasa podrían poner bajo control el $O_2^{\cdot -}$ y H_2O_2 que se podría producir a partir de la autooxidación de la ubisemiquinona, si bien esta autooxidación es poco probable en el entorno fosfolipídico.

Diversos autores han visto que el CoQ_3H_2 y el $CoQ_{10}H_2$ son igualmente efectivos como antioxidantes en vesículas sonicadas de fosfolípidos; la longitud de la cadena poliisoprenoide del CoQ parece no ser, por tanto, un factor determinante en el mecanismo de antioxidación por este compuesto. Se ha planteado el hecho de que el CoQ es el único antioxidante liposoluble que las células pueden sintetizar *de novo* y para el que existen mecanismos enzimáticos apropiados para regenerar la forma reducida.

Se ha demostrado que la forma reducida del CoQ también ejerce su acción antioxidante inactivando la ferril mioglobina, una especie capaz de conducir la peroxidación lipídica a nivel cardiaco y muscular. Estos mismos autores, en colaboración con otros, han mostrado que tanto las ubiquinonas de cadena corta como las de cadena larga pueden proteger enzimas del ataque oxidativo, tanto en solución como unidas a membrana.

La DT-diaforasa es capaz de convertir CoQ a $CoQH_2$ mediante el proceso que se muestra en la **Figura 7**.

4.1.4. Deficiencias y estados carenciales

Los niveles normales de CoQ_{10} en sangre y diversos tejidos están bien establecidos. Se han descrito descensos significativos en los niveles de CoQ_{10} en una amplia variedad de enfermedades. La deficiencia en CoQ_{10} se puede producir como consecuencia de un aporte insuficiente a través de la dieta, por alteraciones de la biosíntesis, por excesiva utilización de la molécula en el organismo, o por una combinación de esas tres causas. Descensos en la ingesta a través de la dieta es lo que tiene lugar durante los procesos de caquexia.

La importancia relativa de la biosíntesis endógena y de la ingesta por la dieta en relación con

el CoQ_{10} está siendo estudiada en la actualidad. Folkers sugirió que la fuente predominante de la molécula es su síntesis endógena. Este proceso complejo, llevado a cabo en 17 pasos, requiere del trabajo de al menos siete vitaminas (riboflavina, niacina, piridoxina, ácido fólico, vitamina B_{12}, C y ácido pantoténico), así como de numerosos elementos traza. La participación de tantos elementos se traduce en una alta vulnerabilidad del proceso.

Diversos autores sugieren que la ingesta de CoQ_{10} es subóptima y que esto potencia la aparición de procesos carenciales bajo ciertas circunstancias. Esto se agrava cuando el proceso de biosíntesis endógena se ve dificultado o impedido, como ocurre, por ejemplo, cuando se están utilizando fármacos inhibidores de la HMG-CoA reductasa, usados en el tratamiento de la hipercolesterolemia. En este caso, aunque se bloquea la biosíntesis de colesterol, también se bloquea la biosíntesis de CoQ_{10}. En pacientes con insuficiencia cardiaca esto es algo más que una observación de laboratorio. En dichos pacientes representa un efecto sumamente perjudicial que debe ser soslayado mediante la suplementación oral de CoQ_{10}.

El consumo elevado de CoQ_{10} es la causa presumida de los bajos niveles de dicha molécula observados tras la realización de ejercicio físico exhaustivo, en casos de hipermetabolismo o en estados de *shock* agudo. No obstante, parece que una combinación de los tres mecanismos (ingesta insuficiente, biosíntesis alterada o excesiva utilización) están tras la mayoría de los casos observados de deficiencia en CoQ_{10}.

4.1.5. Fuentes alimentarias

El CoQ_{10} está distribuido de una forma muy amplia en la naturaleza, por tanto está presente en muchos tejidos vegetales y animales que son parte de nuestra dieta normal. En alimentos de origen animal se han detectado del orden de 0,36 mg/100 g de esta sustancia en la carne de ternera, 0,14 en la de pollo, 0,2 en la de cerdo, 1,26 en corazón de cerdo, entre 0,08 y 0,1 en pescado, 0,01 en los huevos y 0,01 en la leche. En los de origen vegetal, se han detectado del orden de 0,63 mg/100 g en diversos tipos de aceites vegetales, 0,02 mg/100 g en coliflor, 0,013 mg/100 g en pera y 0,014 mg/100 g en naranja.

También se han calculado de forma indirecta los niveles de coenzima Q_{10} que son ingeridos a través de la dieta, a partir de la ingesta de alimentos y del contenido de estos en la mencionada sustancia. En general, los varones ingieren en torno a 5,4 mg/día y las mujeres en torno a 3,8 mg/día. No obstante, al igual que ocurre con otros muchos nutrientes, estos valores son muy variables en función de los hábitos alimenticios de los individuos, y debido a la escasez documental deben ser tomados con cierta precaución.

4.1.6. Coenzima Q_{10} y salud

Una de las primeras aplicaciones del coenzima Q fue en el tratamiento de miopatías mitocondriales. Así, en diversos estudios se comprobó que con la suplementación con este antioxidante en pacientes afectados de diversos tipos de miopatía mitocondrial dichos pacientes mejoraban de forma considerable.

Es en las dolencias cardiacas donde tiene una de sus mayores aplicaciones el CoQ. Esto se basa en los hallazgos iniciales relacionados con ciertas deficiencias en los niveles de este antioxidante en pacientes con insuficiencia cardiaca. Así, la suplementación de estos pacientes con CoQ_{10} da lugar a elevaciones en sus niveles plasmáticos y a una mejoría en la función miocárdica y otras condiciones clínicas.

Desde un punto de vista clínico es bien sabido que la exposición aguda y crónica a diversos tipos de antraciclinas genera una alta toxicidad con grave deterioro de las funciones sistólica y diastólica. Habitualmente, estas alteraciones están relacionadas con una mayor producción de radicales libres en el músculo cardiaco y son parcialmente prevenidas o retardadas cuando de forma combinada con la quimioterapia se administran suplementos de coenzima Q.

Si bien la presencia de CoQ_{10} en las lipoproteínas plasmáticas humanas se conoce desde hace tiempo, ha sido recientemente cuando se ha descubierto su significado biológico. Básicamente, su papel consiste en preservar la partícula de LDL de la oxidación, así como en preservar el resto de los antioxidantes presentes en la lipoproteína. Esto ha sido demostrado en observaciones en las que sólo cuando el coenzima Q se agotaba comenzaba realmente la peroxidación lipídica inducida de diferentes

modos. Del mismo modo, sólo comenzaba a utilizarse vitamina E de la presente en las lipoproteínas cuando los niveles de CoQ caían por debajo de ciertos límites. Este papel del CoQ, por tanto, se enmarca en un contexto de coantioxidación.

Ha quedado ampliamente demostrado que la producción de radicales libres a nivel de la cadena de transporte de electrones mitocondrial representa aproximadamente el 3% del oxígeno total consumido por dicha cadena. Esta proporción se mantiene constante prácticamente bajo cualquier situación fisiológica; sin embargo, en situaciones, como, por ejemplo, durante la realización de ejercicio físico, la cantidad total de radicales libres formados a ese nivel aumenta debido al mayor volumen de oxígeno respirado. Bajo estas circunstancias de estrés oxidativo por ejercicio físico, los niveles mitocondriales de CoQ se han mostrado muy importantes, de modo que la suplementación con dicha molécula disminuye la producción de radicales así como los bajos niveles debidos a estados carenciales aumenta el estrés oxidativo relacionado con el ejercicio físico.

4.2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos comúnmente referidos como polifenoles están presentes en todas las plantas y también en la dieta. Hay más de 8.000 estructuras fenólicas que han sido identificadas, existiendo desde moléculas simples hasta compuestos altamente polimerizados. Entre esta gran variedad de compuestos fenólicos, los mayoritarios son los flavonoides, con más de 5.000 tipos distintos.

Aunque los compuestos fenólicos están presentes en los alimentos, su nivel de ingesta varía enormemente según el tipo de dieta consumida. Por ejemplo, algunas bebidas, como el vino tinto; vegetales y frutas, como el zumo de manzana o la naranja; y las legumbres, son especialmente ricos en estos compuestos.

Los principales compuestos fenólicos en los cereales y legumbres son los flavonoides, ácidos fenólicos y taninos. En el vino, son los ácidos fenólicos, antocianinas, taninos y otros flavonoides, en las frutas es el flavonol, en el aceite de oliva virgen son los ácidos fenólicos, en las cebollas el glucósido de quercetina y en el té y manzanas es el rutósido de quercetina.

Algunos estudios recientes muestran que la ingesta de compuestos fenólicos es variable según los grupos de población estudiados, aunque son estudios limitados pues muchas tablas de composición de alimentos no recogen el contenido de estos compuestos en los alimentos. Sin embargo, sí es evidente que dietas ricas en verduras, frutas y bebidas son abundantes en estos compuestos. Son muchos los estudios que han mostrado una asociación inversa entre el consumo de compuestos fenólicos y las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. En el estudio *Zutphen Elderly Study* se concluyó que una alta ingesta de flavonoides (aprox. 30 mg/día) estaba asociada a una reducción del 50% en la mortalidad por enfermedad cardiovascular, en comparación con individuos cuya ingesta era menor de 19 mg/día. Entre los mecanismos de acción de estos compuestos se encuentran una inhibición de la oxidación de las LDL y una menor agregación y adhesión plaquetarias.

El vino tinto es uno de los alimentos más ricos en compuestos fenólicos, con más de 200 compuestos diferentes identificados. Muchos trabajos muestran que el vino tinto inhibe la oxidación de las LDL, así como incrementa la capacidad antioxidante del plasma. Entre los antioxidantes identificados en el vino se incluyen flavonoides, ácidos fenólicos, catequinas y antocianinas. La catequina es el más común de estos compuestos en el vino, alcanzando concentraciones de 300 mg/l, pero el vino tinto también posee flavonas (30 mg/l) y 140 mg/l de ácidos fenólicos. Sus efectos son iguales, tanto si se ingieren uvas como vino tinto (*ver Capítulo 2.12*).

Nuevas evidencias sugieren que los compuestos fenólicos tienen actividad antitrombogénica al reducir la síntesis de sustancias protrombóticas y mediadores proinflamatorios, disminuir la expresión de moléculas de adhesión, así como modular la producción de óxido nítrico por el endotelio generando vasodilatación, y por suprimir la producción del anión superóxido.

Otros alimentos ricos en compuestos fenólicos son el chocolate y el cacao, en los que se hallan quercetina, epicatequina, procianidina y el rojo cacao (*ver Capítulo 2.13*). Muchos estudios han demostrado que el cacao disminuye la susceptibilidad a la oxidación de las LDL, inhibe la producción de peróxido de hidrógeno y del anión superóxido, e inhibe también la ciclooxigenasa. Por último, tam-

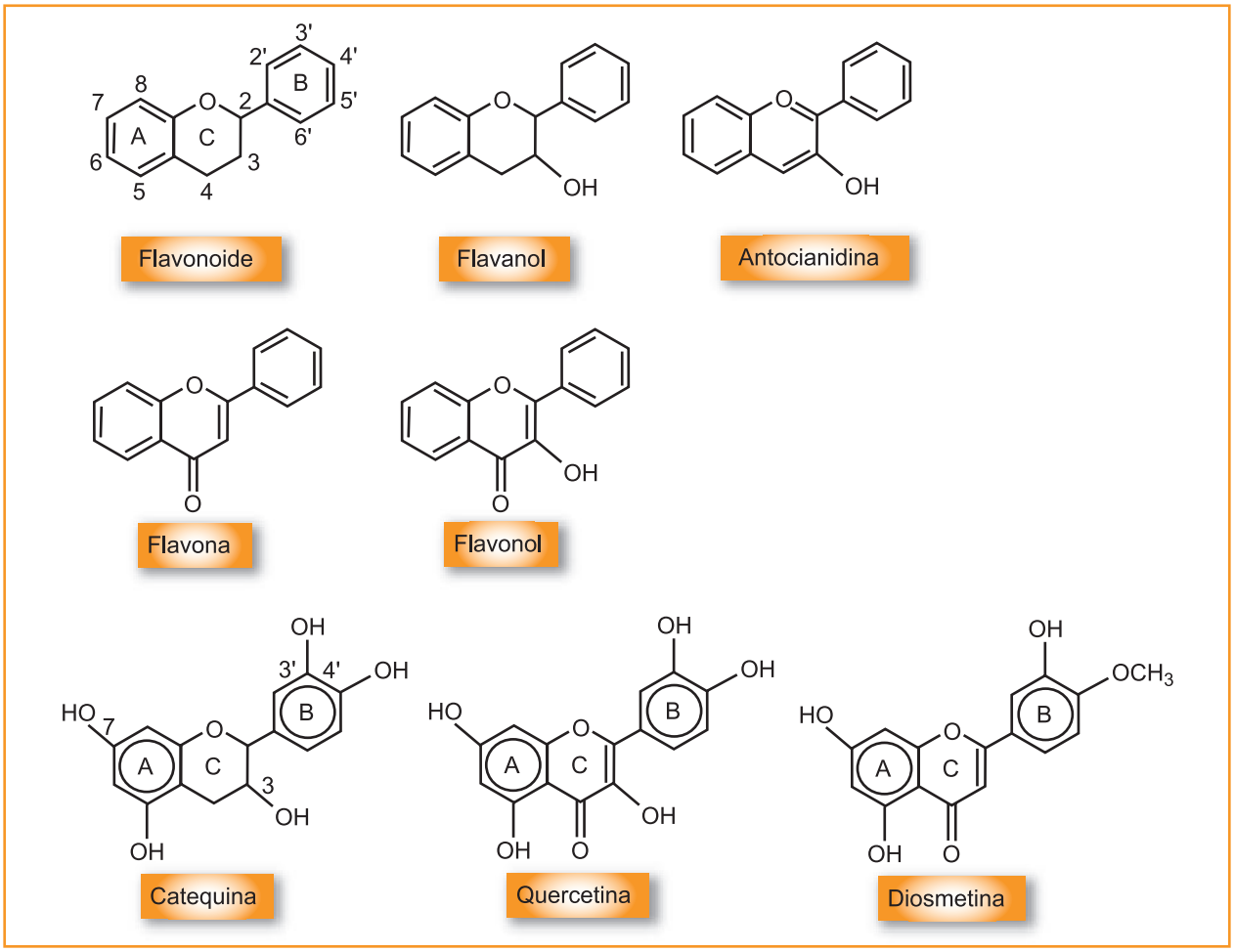


Figura 8. *Estructura química de los distintos tipos de flavonoides: flavanol, antocianidina, flavona y flavonol. Ejemplo de algunos de los flavonoides más comunes en la naturaleza.*

bién se ha encontrado que estos compuestos pueden incrementar el contenido de prostaciclinas y disminuir el de leucotrienos plasmáticos.

4.2.1. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos derivados de las plantas con efectos positivos sobre la salud. Estos pigmentos naturales protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioleta, sustancias tóxicas presentes en los alimentos, la contaminación ambiental, etc. Son muchos los trabajos que muestran el efecto beneficioso de estos compuestos contra muchas enfermedades, en particular cardiovasculares y oncológicas.

4.2.1.1 Estructura química

Los flavonoides están ampliamente distribuidos en las plantas, y algunos específicos se han aislado de los hongos y líquenes.

Actualmente se conocen del orden de 5.000 pero en cuanto a su estructura química comparten un esqueleto común de difenilpiranos, compuesto por dos anillos fenilo (A y B) ligados a un anillo de pirano (anillo C) **(Figura 8)**. Esta estructura básica es hidroxilada, metoxilada y glicosilada con mono y oligosacáridos originando una gran variedad de compuestos. En función de sus características estructurales, se pueden clasificar en:

- **Flavanos:** como la catequina, con un grupo OH en posición 3 del anillo C.

• **Flavonoles:** representados por la quercetina, con un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo OH en la posición 3 del anillo C.

• **Flavonas:** como la diosmetina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en este anillo en la posición 3.

• **Antocianinas:** con un grupo OH en posición 3 y un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.

4.2.1.2. Fuentes alimentarias

Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas y flores, así como en cerveza, vino, té verde, té negro y soja. Estos compuestos también se encuentran en los extractos de plantas como el *Gingko biloba*, cardo, arándano, etc. La ubicación de los flavonoides es en las hojas y en el exterior de las plantas. El vino tiene un alto contenido de compuestos fenólicos y en especial de flavonoides que se localizan en la piel de la uva, especialmente en las células epidérmicas, y en las pepitas. La cantidad de estos compuestos en la uva, así como su variedad, dependen del clima, del terreno y de las condiciones de cultivo. La cerveza es otra bebida rica en flavonoides, entre los que destacan los polihidroxiflavanos (catequina y epicatequina), los antocianógenos (leucocianidina o leucopelargonidina) y los flavonoles (grupo de las quercetinas).

Como ya se mencionó al principio del Capítulo, se han identificado más de 5.000 flavonoides, entre los que cabe, destacar, por su mayor abundancia:

• **Citroflavonoides:** quercetina, hesperidina, rutina, naranjina y limoneno. La quercetina es un flavonoide amarillo-verdoso presente en cebollas, manzanas, brócolis, cerezas, uvas o repollo rojo. La hesperidina se encuentra en los hollejos de las naranjas y limones; la naranjina en la naranja, limón y toronja y el limoneno en el limón y lima.

• **Flavonoides de la soja o isoflavonoides:** los más conocidos son la genisteína y la daidzaína, que se localizan en todos los alimentos con soja como la leche, proteína vegetal texturizada y tofú, etc.

• **Proantocianidinas:** se localizan en las semillas de uva, vino tinto y extracto de corteza del pino marino.

• **Antocianidinas:** son pigmentos vegetales responsables de los colores rojo y rojo azulado de las cerezas.

• **Ácido elágico:** se encuentra en la fruta como la uva, y en verduras.

• **Catequina:** el té verde y negro son buenas fuentes.

• **Kaempferol:** aparece en puerros, brócoles, rábano, endivias y remolacha roja.

Por su gran diversidad entre las frutas y verduras su ingesta diaria se estima en 23 mg/día, siendo predominantes los derivados de la quercetina. Los flavonoides representan una contribución importante al potencial antioxidante de la dieta humana, pues su consumo excede al de otros antioxidantes como la vitamina E (7-10 mg/día) y el β-caroteno (2-3 mg/día).

Entre los alimentos con mayor cantidad de flavonoides destaca el té, con epicatequina, catequinas en forma de agliconas, galato de epicatequina-3 y galato de epigalocatequina-3, como ésteres del ácido gálico. Muchos estudios han comprobado que la catequina se absorbe fácilmente a nivel intestinal, pero otros flavonoides con una gran actividad biológica son pobremente absorbidos y su biodisponibilidad es escasa.

Este factor limitante en la biodisponibilidad oral parece ser debido a su pobre transporte en el enterocito y su gran eficiencia en metabolizarse por conjugación.

4.2.1.3. Absorción y metabolismo

Existen tres hipótesis bastante contradictorias que explican la absorción de los flavonoides:

a) La microbiota intestinal ataca al anillo C del flavonoide dando lugar a productos completamente inactivos, sin función antioxidante y que no son secuestradores de radicales libres.

b) Se produce una hidrólisis de los flavonoides en su forma de glucósidos por las bacterias intestinales ocasionando la activación de sus compuestos, dando lugar a los derivados agliconas.

c) Otros estudios han hipotetizado que las agliconas no son transferidas desde el sistema digestivo al torrente sanguíneo.

El metabolismo es intenso, y una gran parte de los flavonoides se excretan por la orina. La transformación de los flavonoides tiene lugar en dos localizaciones; una en el hígado, por medio de reacciones de biotransformación de fase I en las que se introducen o exponen grupos polares; en segundo lugar en el colon mediante reacciones de biotrans-

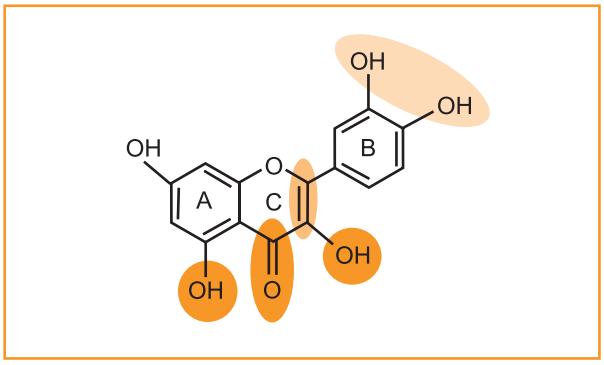


Figura 9. *Esquema de un flavonoide con los grupos químicos que le confieren su poder antioxidante: A: presencia de dos grupos hidroxilo en posición orto en el anillo B (naranja claro); B: presencia de un doble enlace conjugado con el grupo 4-oxo del anillo C (naranja intermedio); C: presencia de dos grupos hidroxilo en posición 3 y 5 de los anillos A y C, respectivamente, junto al grupo 4-oxo en el anillo C (naranja oscuro). Los flavonoides presentarán alguna de las estructuras citadas, dos de ellas o todas, aumentando, respectivamente, su poder antioxidante.*

formación de fase II en las que los microorganismos degradan los flavonoides no absorbidos.

Los efectos biológicos de los flavonoides en su forma de glucósidos ha sido tema de gran controversia en la literatura, pero trabajos recientes ya muestran que sí son absorbidos en el intestino mediante un transportador dependiente de sodio y glucosa. Además, también se ha postulado que algunos de estos compuestos se hidrolizan en el intestino delgado y en la cavidad bucal y posteriormente se absorben. Sin embargo, la absorción de los flavonoides en su forma de aglicona a lo largo del tracto digestivo es mayoritaria respecto a la de la forma glicósido. El gran problema es que los flavonoides se presentan en la naturaleza bajo la forma glicósido y no aglicona. Hoy día las industrias están desarrollando productos ricos en flavonoides bajo la forma de aglicona.

4.2.1.4. Función antioxidante

Una de las funciones más estudiadas de los flavonoides es su capacidad antioxidante tanto *in vivo* como *in vitro*. Desde hace tiempo se conocía su efecto sobre los alimentos retardando su enranciamiento e incrementando su vida media. Sin embargo, hasta esta última década no existían estudios que describiesen los mecanismos por los que los flavonoides actúan como antioxidantes. El creciente interés acerca de los flavonoides se debe a la apreciación de su amplia actividad farmacológica, pues pueden unirse a enzimas, a transportadores de hormonas, al DNA, quelar iones metálicos, catalizar el transporte de electrones y secuestrar radicales libres. Gracias a estas funciones se han descrito efectos protectores de estos compuestos en diversas patologías como diabetes, cáncer, procesos inflamatorios y en la enfermedad cardiovascular.

Los criterios químicos para establecer la capacidad antioxidante de los flavonoides son **(Figura 9)**:

1. Presencia de estructura O-dihidroxi en el anillo B que le confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones.

2. Doble enlace conjugado con el grupo 4-oxo del anillo C.

3. Presencia del grupo 3 y 5 OH con función 4-oxo en los anillos A y C para ejercer el máximo potencial antioxidante.

Atendiendo a estos criterios es la quercetina la que reúne los tres, adquiriendo una capacidad antioxidante cinco veces mayor a la vitamina E. Este flavonol ha sido investigado por su efecto antiproliferativo y por inducir la muerte celular por un mecanismo apoptótico en líneas celulares neoplásicas mediante activación de la caspasa 3 a concentraciones relativamente altas. En hígado se ha descrito su capacidad para inhibir la activación de las células estrelladas así como la producción de óxido nítrico, alterando vías de expresión de proteínas celulares, y en estudios *in vitro* se ha comprobado que diversos flavonoides inhiben la expresión de la óxido nítrico sintasa y la formación de óxido nítrico en macrófagos estimulados por citokinas.

Los flavonoides retiran oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxido, radicales hidroxilo, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera, bloquean la acción de dichas sustancias sobre las células. Diversos flavonoides suprimen los procesos de peroxidación lipídica del ácido linoleico o de los fosfolípidos de las membranas, la peroxidación de los glóbulos rojos y la oxidación de las LDL haciendo estas partículas menos aterogénicas.

En la actualidad, se está estudiando el papel de los flavonoides en la prevención del cáncer.

Experimentos *in vitro* e *in vivo* han encontrado efectos protectores de los flavonoides en algunos tipos de cáncer. Sus mecanismos de acción consisten en la inhibición de la expresión de genes mutados y la actividad de enzimas que promueven la carcinogénesis, favoreciendo la detoxificación de xenobióticos, y, por último, protegiendo al DNA de la oxidación.

4.2.2. Resveratrol

El resveratrol es un polifenol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno), que se encuentra principalmente en la piel de las uvas y en menor cantidad en los cacahuetes. El vino tinto es una buena fuente de resveratrol, y es este compuesto el que en gran medida le confiere su efecto cardioprotector por inhibir la oxidación de las LDL, la agregación plaquetaria y la síntesis de eicosanoides.

Evidencias muy recientes sugieren que son múltiples los mecanismos por los que el resveratrol previene la enfermedad cardiovascular, además de tener funciones como quimioprotector por inhibir la ribonucleótido reductasa y otros mecanismos celulares asociados con la iniciación, promoción y progresión del cáncer. Una dosis de 25 µM de resveratrol reduce en un 98% el número de tumores en la piel del ratón y en un 88% el número de ratones con tumores.

Por lo tanto, la acción de este compuesto fenólico es dependiente de la dosis y actúa como agente antimutagénico y antioxidante simultáneamente.

El mecanismo de acción del resveratrol aún no es bien conocido, y son necesarias futuras investigaciones en este campo. Se ha hipotetizado, sobre la base de las evidencias actuales, que dos vasos de vino tinto permiten alcanzar una concentración plasmática de resveratrol similar a las dosis farmacológicas que han demostrado los efectos anteriormente descritos.

4.2.3. Cúrcuma y curcuminoides

La especie *Curcuma longa* L., de la familia de las zingiberáceas, es una planta de origen asiático cuyo rizoma de color naranja vivo bajo una fina película marrón clara es usado comúnmente como una especia en la cultura asiática, donde está considerada como una planta mágica dadas sus características organolépticas y sus indudables propiedades terapéuticas y protectoras, sobre todo a nivel hepático y cutáneo.

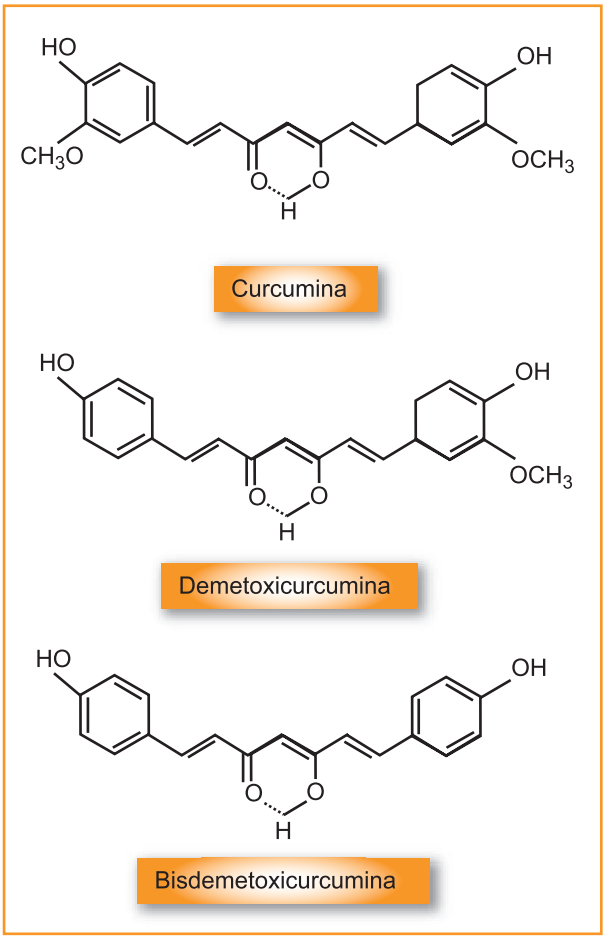


Figura 10. *Estructura química de los curcuminoides (curcumina, demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina) presentes en el extracto de cúrcuma.*

El extracto de cúrcuma es rico en una sustancia fenólica, la curcumina, que presenta una potente acción antioxidante sobre los AGPI y en homogenizados de órganos animales *in vitro*. Entre los componentes del extracto **(Figura 10)** se encuentran hidratos de carbono (4,7-8,2%), aceites esenciales (2,4-4%), ácidos grasos (1,7-3,3%), curcuminoides (curcumina, demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina), cuyo contenido aproximado es de un 2%, aunque puede rondar entre 2,5 y 5,0% del peso seco, y polipéptidos como la turmerina (0,1% del extracto seco).

4.2.3.1. Funciones y mecanismos de acción de los curcuminoides

El mecanismo antioxidante más conocido de la cúrcuma y de sus componentes activos es la capacidad de éstos para retirar especies reactivas de oxígeno, principales responsables de la peroxidación de los lípidos celulares, así como su capacidad de quelar iones metálicos necesarios para iniciar el proceso de peroxidación. Estas sustancias son capaces de eliminar principalmente el radical hidroxilo, el oxígeno singlete, el dióxido de nitrógeno y el óxido nítrico. Además, la curcumina inhibe la generación del radical superóxido.

En cuanto a la relación entre la estructura química y la acción de estos compuestos, la presencia de los grupos fenólicos en la estructura de la curcumina es fundamental para explicar su capacidad de retirar radicales libres del medio. Las cadenas alquílicas laterales desempeñan un importante papel en la regeneración de antioxidantes durante la peroxidación, igual que en el caso de la vitamina E. Además, los factores que favorecen la formación de quinonas, como los sustituyentes voluminosos en posición orto, hacen que los compuestos funcionen como eficientes inhibidores de la peroxidación lipídica, mientras que los grupos con capacidad de atracción de electrones, al prevenir la formación de estructuras semejantes a las quinonas, hacen que los compuestos actúen como pobres inhibidores. Independientemente del modo de acción, los compuestos que contienen al menos un grupo fenólico y un doble enlace en la cadena lateral muestran una mejor acción inhibidora de la peroxidación lipídica.

Existen muchos trabajos que muestran la capacidad de la cúrcuma en la prevención de la peroxidación lipídica, proceso clave en el inicio y desarrollo de múltiples enfermedades. Por otro lado, también se ha confirmado la capacidad de la curcumina para estabilizar membranas. Nuestro equipo de investigación también ha comprobado que dosis de curcumina entre 2,4 y 9,6 µM inhiben la oxidación de las LDL humanas *in vitro*.

Químicamente, el extracto de cúrcuma es rico en curcumina, que presenta una potente acción antioxidante sobre los AGPI y en homogenizados de órganos animales *in vitro*. Esta sustancia, unida a micelas de fosfatidilcolina, inhibe la dioxigenación de ácidos grasos inducida por la lipooxigenasa 1, y se ha comprobado que con 8,6 µM de curcumina se inhibe el 50% de la peroxidación del ácido linoleico.

El efecto antioxidante de la cúrcuma y de la curcumina en células renales es comparable al de la vitamina E en la protección frente al estrés oxidativo en este tipo celular. Otros autores han comprobado que la suplementación oral con cúrcuma reduce la peroxidación lipídica e incrementa los ácidos grasos esenciales (anormalmente reducidos por una alimentación deficitaria) en microsomas aislados de hígado, riñón, bazo y cerebro. Esto podría indicar una acción protectora en las alteraciones que pueden sufrir las membranas de estos órganos por distintos procesos patológicos y fisiológicos, como el envejecimiento. Además, existen trabajos en los que se ha demostrado que el metabolito más frecuente de la curcumina, la tetrahidrocurcumina, también inhibe la peroxidación lipídica en microsomas hepáticos y en membranas de eritrocito.

El hígado es el órgano con el mayor índice de estrés oxidativo dado su papel fundamental en el metabolismo de las grasas y en la biotransformación de xenobióticos y sustancias tóxicas, procesos que conllevan un gran incremento de la peroxidación lipídica, lo que puede perjudicar seriamente su funcionalidad. Existen muchos trabajos realizados por nuestro grupo de investigación que reflejan la protección que ejerce la suplementación oral con extractos de cúrcuma y curcumina en este órgano y en sus membranas.

La peroxidación lipídica tiene un papel fundamental en el desarrollo de las enfermedades neurológicas degenerativas, aunque no está claro si este proceso es la causa o la consecuencia de dichas enfermedades. Se ha demostrado que los componentes de la cúrcuma pueden disminuir la peroxidación lipídica en homogenizados y extractos de cerebro. En la aterosclerosis se ha observado que la cúrcuma disminuye los peróxidos lipídicos plasmáticos, moléculas con un papel importante en la patogenia de esta enfermedad. Por otro lado, esta sustancia disminuye la susceptibilidad a la oxidación de las LDL, inhibe la proliferación de las células del músculo liso vascular, y estimula la expresión del receptor para las LDL en la superficie de dichas células. Además, posee un efecto antitrombótico, aumenta la actividad fibrinolítica (siendo tan efectiva como el clofibrato), tiene un efecto

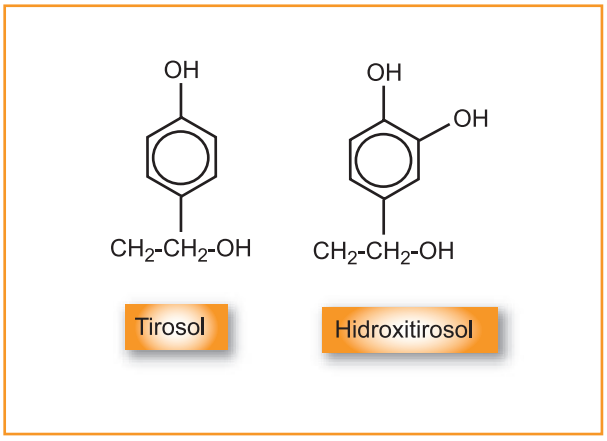


Figura 11. *Estructura química de los alcoholes fenólicos (tirosol e hidroxitirosol) presentes en el aceite de oliva virgen.*

hipotensor transitorio y es antiagregante plaquetario *in vivo* y *ex vivo*.

En conclusión, la ingesta o la suplementación con el extracto de *Curcuma longa* disminuye el estrés oxidativo y atenúa el desarrollo de estrías lipídicas en conejos alimentados con una dieta rica en colesterol, por lo que quizás podría ser utilizado como preventivo en pacientes con enfermedad vascular periférica.

4.2.4. Aceite de oliva virgen y compuestos fenólicos

El aceite de oliva virgen es el zumo oleoso de las aceitunas separado de los demás componentes de este fruto. Se denomina proceso de elaboración de aceite de oliva virgen al conjunto de operaciones mecánicas y/o físicas que, partiendo íntegramente de aceitunas y desarrollándose específicamente bajo condiciones adecuadas para no alterar la calidad, produce la separación de la fracción oleosa del resto de los constituyentes (*ver Capítulo 2.11*).

El aceite de oliva virgen es un aceite mayoritariamente compuesto de triglicéridos, lo que se denomina **fracción saponificable** y que puede estimarse en un 97% del total. Por otro lado, existe una fracción muy minoritaria (1-3%) pero no menos importante, conocida como **fracción insaponificable**, que está compuesta de una serie de sustancias de gran interés nutricional y que son las responsables de la estabilidad del aceite y de sus características organolépticas.

Los componentes minoritarios de los aceites vegetales se pierden durante los procesos de refinación. Esto no ocurre en el caso del aceite de oliva virgen, que los mantiene por ser sometido únicamente a tratamientos de lavado, prensado, centrifugado y filtración. Estos compuestos minoritarios se caracterizan por presentar una potente actividad antioxidante, y entre ellos se puede destacar la vitamina E (150 mg/kg) y los compuestos fenólicos (350 mg/kg). La concentración de estos compuestos fenólicos en el aceite de oliva virgen puede variar desde 50 a 800 mg/kg, expresados como ácido cafeico. Este amplio rango se debe a que dichas sustancias se ven altamente influenciadas por varios factores ambientales, como son la variedad de aceituna, el grado de maduración de la misma, el sistema de elaboración y, por último, la conservación del aceite.

Los compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva virgen pueden agruparse en cuatro tipos:

- **Alcoholes fenólicos:** tirosol e hidroxitirosol **(Figura 11)**.
- **Ácidos fenólicos libres:** serie benzoica (ácido protocatéquico, vaníllico, siríngico, gálico) y serie cinámica (ácido p-cumárico, cafeico y sinápico) **(Figura 12)**.
- **Derivados esterificados** del ácido cafeico (verbascósido) o del ácido elenólico (oleuropeína, glicosilada o no), estando ambos ácidos esterificados por el hidroxitirosol **(Figura 13)**.
- **Flavonoides: flavonas** (luteolina y rutina) **y flavonoles** (quercetina y kaempferol glicosilado) **(Figura 14)**.

Los efectos beneficiosos del aceite de oliva sobre la salud han quedado ampliamente de manifiesto a lo largo del tiempo. En la última década se ha prestado gran interés a los compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva por su gran actividad antioxidante corroborada en distintos modelos biológicos. Un efecto importante de estos compuestos es su papel en la defensa antioxidante celular y como agentes preventivos o terapéuticos en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares. Estudios recientes sugieren que tanto el ácido oleico como los compuestos fenólicos, por su poder antiinflamatorio, ejercen un efecto inhibidor en la expresión génica tanto de marcadores químicos del proceso inflamatorio como de las moléculas de adhesión, a la vez que limitan la oxidación de las LDL disminuyendo su poder aterogénico.

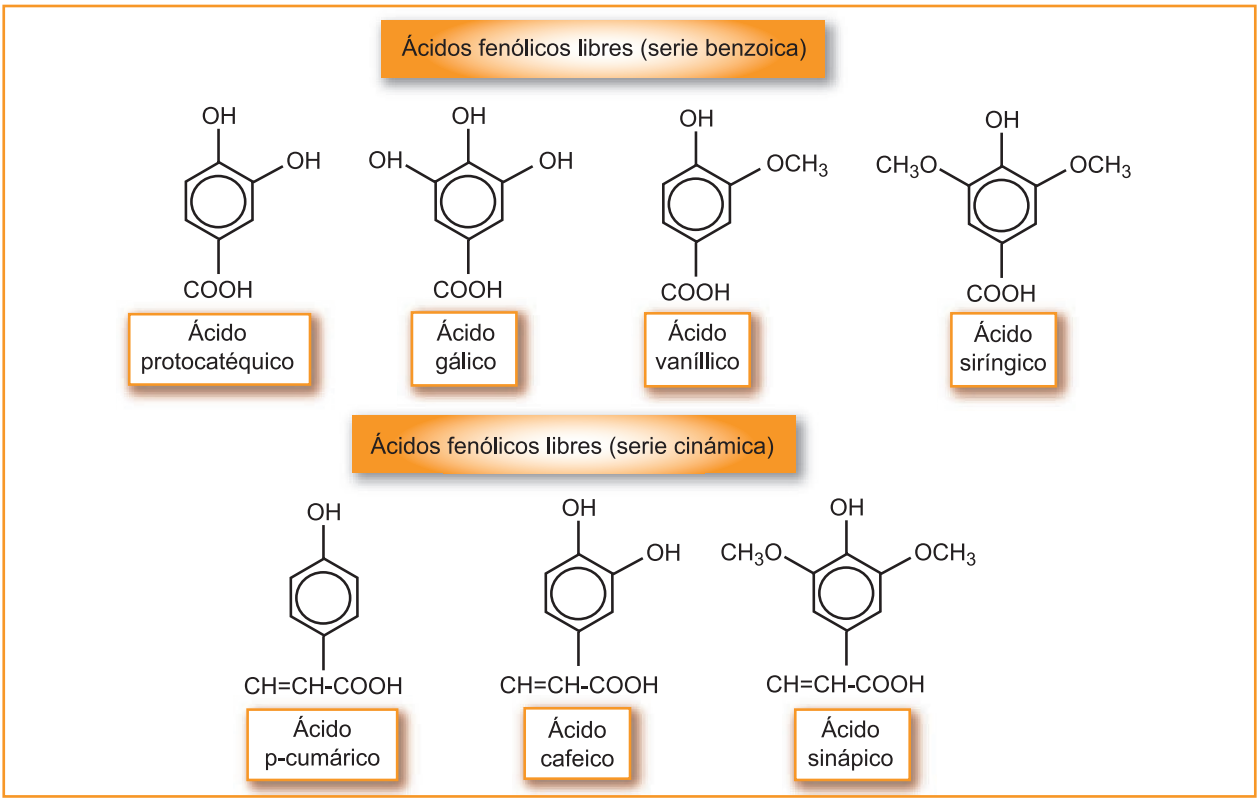


Figura 12. *Estructura química de los ácidos fenólicos libres (serie benzoica y serie cinámica) presentes en el aceite de oliva virgen.*

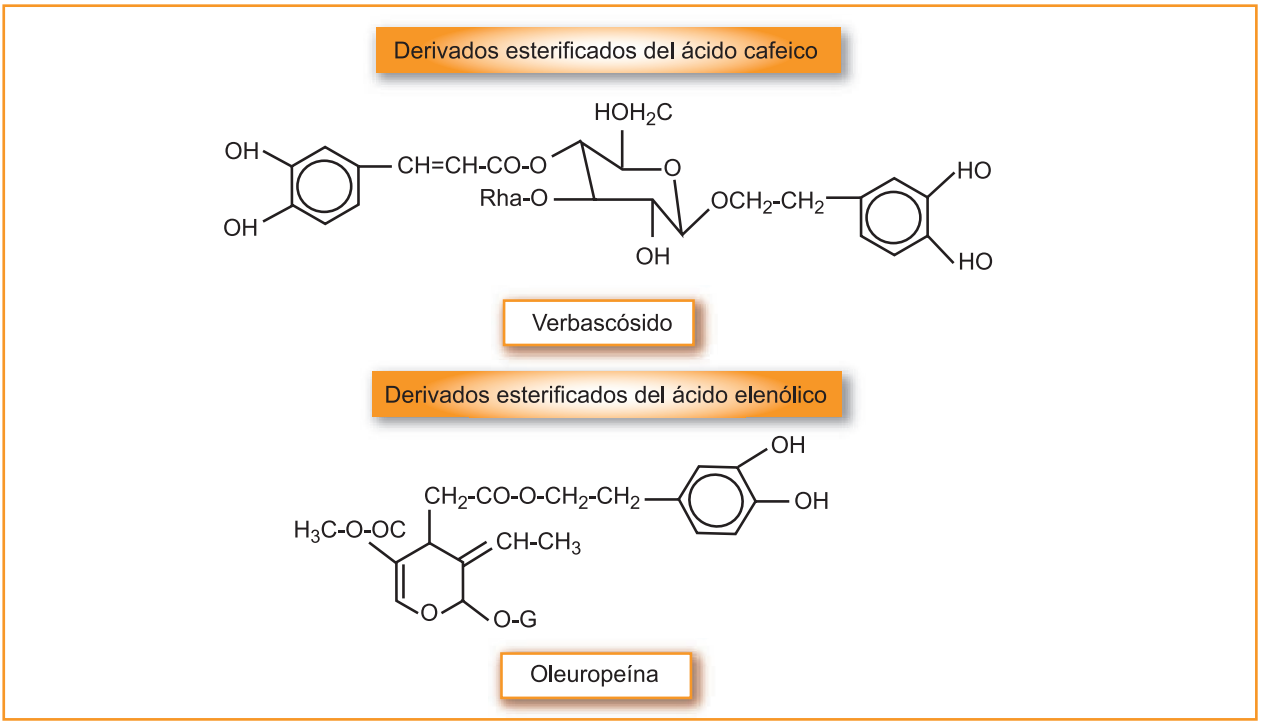


Figura 13. *Estructura química de los derivados esterificados del ácido cafeico y del ácido elenólico presentes en el aceite de oliva virgen. Rha: ramnosa; G: glucosa.*

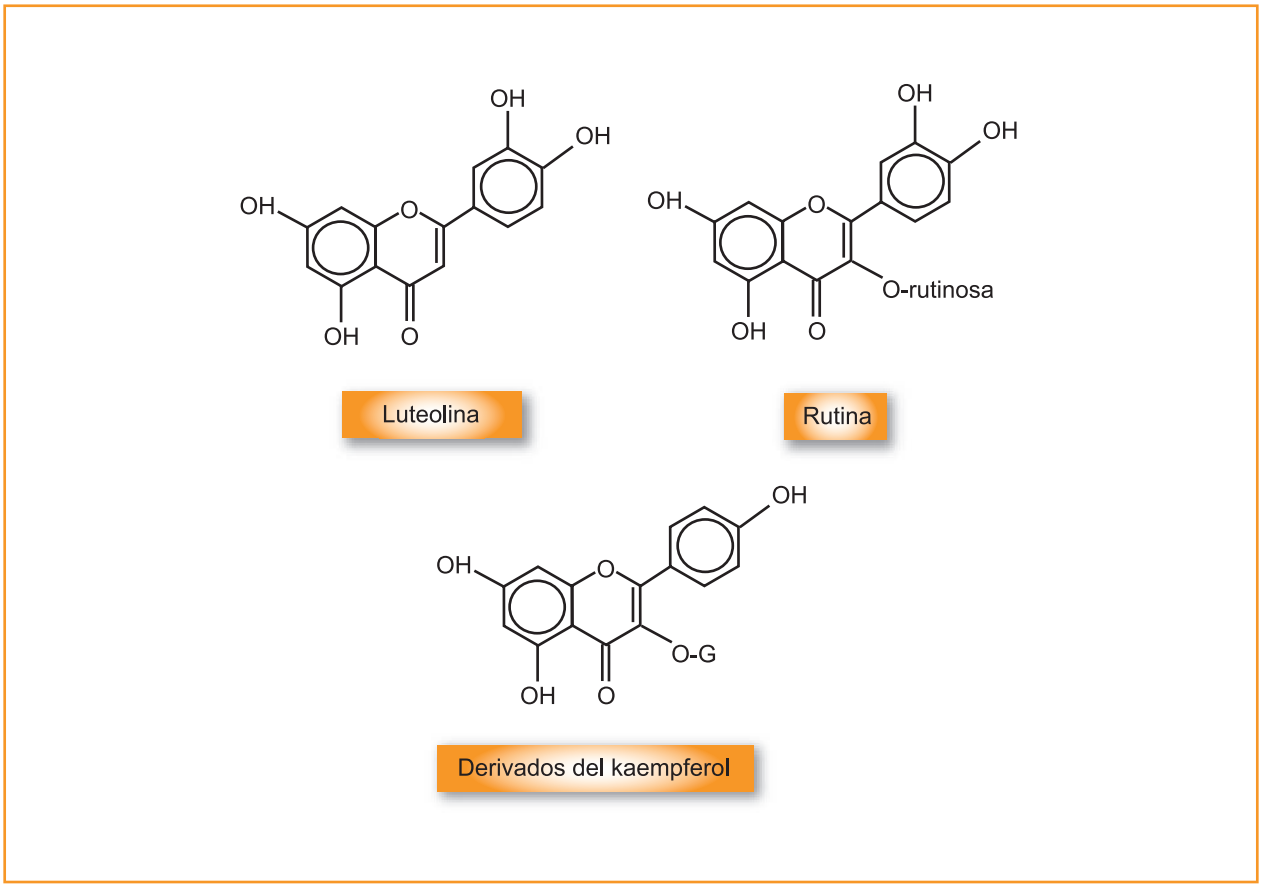


Figura 14. *Estructura química de los flavonoides -flavonas y flavonoles- presentes en el aceite de oliva virgen.*

Por otro lado, los compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva virgen, particularmente el tirosol y el hidroxitirosol, son capaces de aumentar la fase de retardo en la oxidación de las LDL y captar el anión superóxido implicado en los procesos inflamatorios. La oleuropeína también aumenta la resistencia a la oxidación de las LDL. Nuestro grupo de trabajo ha observado que la ingesta de aceite de oliva virgen en conejos con aterosclerosis experimental provocada por la ingesta de grasa saturada y colesterol da lugar a una menor susceptibilidad a la oxidación de las LDL en comparación con el aceite de oliva refinado, así como a un menor incremento en los hidroperóxidos de las mitocondrias hepáticas, hechos que van aparejados con una menor incidencia e intensidad de lesiones aórticas tanto en el cayado como en los segmentos torácico y abdominal de los conejos. La presencia de los compuestos fenólicos del aceite de oliva virgen también le confiere propiedades cardiosaludables inhibiendo la expresión de citokinas y de algunas moléculas de adhesión muy implicadas en el desarrollo de la placa de ateroma.

El hidroxitirosol, que hasta el momento se ha mostrado como el más potente antioxidante de los fenoles del aceite de oliva, se comporta de forma excelente frente a agentes oxidantes como el peróxido de hidrógeno, adquiriendo un importante papel en procesos de mutagénesis, ya que este compuesto es el más reactivo con el material genético. Ademas, nuestro grupo de investigación ha comprobado que el hidroxitirosol es el más eficaz para reducir el daño oxidativo sufrido por el DNA nuclear de células de epitelio de próstata tumorales provocado por el peróxido de hidrógeno.

5. Resumen

- Existen muchas evidencias de que cada vez es mayor la incidencia de ciertas patologías como consecuencia de una ingesta inadecuada de nutrientes, entre las que destacan las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, la obesidad, el síndrome metabólico, etc. Estas enfermedades cursan con generación de radicales libres que atacan tanto a proteínas y lípidos como al material genético de las células. Gracias a la presencia de antioxidantes se puede eliminar gran parte de estos radicales reduciendo por tanto el estrés oxidativo celular. Estos antioxidantes pueden ser de origen endógeno o bien exógeno. Debido a que los antioxidantes endógenos no son suficientes para reducir dicho estrés, se requiere la ingesta de los mismos, que en cantidades muy pequeñas son capaces de ejercer una potente acción antioxidante.

- Hoy día se conocen más de 10.000 compuestos distintos con capacidad antioxidante que se localizan principalmente en vegetales, semillas, aceites de semillas, frutas y bebidas como el vino y la cerveza. Debido a su baja ingesta ha resultado difícil para la comunidad científica determinar cuál es su mecanismo de absorción, distribución y excreción en el organismo, pero gracias al empleo de isótopos estables se ha conseguido un gran avance en dicho campo. En muchos estudios epidemiológicos se ha demostrado que el consumo incrementado de frutas y vegetales disminuye en un 50% el riesgo de ciertos cánceres digestivos, del cáncer de mama por modular la reacción de los estrógenos, el desarrollo de la aterosclerosis por hacer las LDL menos susceptibles a oxidarse, reduce la producción de moléculas de adhesión e inhibe la agregación plaquetaria.

- Por su mayor abundancia en la naturaleza y su alta actividad antioxidante cabe destacar la vitamina E, la vitamina C, los compuestos fenólicos (flavonoides, curcuminoides)... y el coenzima Q_{10}. En todos ellos, el principal mecanismo de acción es retirando oxígeno reactivo, especialmente en forma de anión superóxido, radicales hidroxilo, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. Tampoco hay que olvidar el efecto sinérgico entre estos compuestos, ni su posible acción prooxidantes que se produce a dosis altas y bajo condiciones determinadas.

6. Bibliografía

Aranceta J, Serra L, Ortega R, Entrala A, Gil A. Libro blanco, las vitaminas en la alimentación de los españoles. Estudio eVe. Editorial Médica Panamericana. Madrid, 2000.
Libro que destaca por el gran número de estudios epidemiológicos que se citan para dar a conocer el estado actual de la población española y sus deficiencias vitamínicas en todos los grupos poblacionales.

Cadenas E, Packer L (eds.). Handbook of Antioxidants. Editorial Marcel Dekker, Inc. New York, USA, 1996.
Libro que trata con gran rigor científico los antioxidantes presentes en los alimentos, de lectura recomendable.

Gutteridge J, Halliwell B. Antioxidants in Nutrition, Health and Disease. Oxford University Press, 1994.
Edición de bolsillo que describe muy bien los conceptos de vitamina, antioxidantes y sus implicaciones en la salud.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd ed. Oxford University Press. Oxford, 1999.
Libro estrella que explica el papel de los antioxidantes y los radicales en diversas patologías con gran carácter científico.

Mahan LK, Stump SE (eds.). Krauses's Food, Nutrition and Diet Therapy, 11th ed. Saunders. Philadelphia, Pennsylvania, 2004.
Libro actual que recoge muy bien los conceptos de nutrición y su relación con el tratamiento de diversas patologías. Destaca por la actualización de los conocimientos en el campo de la nutrición.

Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ. Revisión: Los flavonoides; propiedades y acciones antioxidantes. Nutri Hosp 2002; XVII: 271-8.
Revisión muy actualizada de las funciones y estructuras de los flavonoides.

Mataix J. Aceite de oliva virgen: nuestro patrimonio alimentario. Editorial Universidad de Granada y Puleva Food, 2001.
Libro que abarca desde la composición del aceite de oliva virgen hasta sus aspectos saludables. Trata muy bien el papel de los compuestos fenólicos de la fracción insaponificable del aceite de oliva en la salud.

Walle T. Review: Absorption and metabolism of flavonoids. Free Radic. Biol Med 2004; 36: 829-37.
Revisión importante que describe muy bien cómo se absorben y metabolizan los flavonoides.

Williams R, Spencer J, Rice-Evans C. Review: Flavonoids; antioxidants or signalling molecules? Free Radic Biol Med 2004; 36: 838-49.
Revisión que discute el principal papel de los flavonoides como antioxidantes o moléculas de señalización.

7. Enlaces web

- books.nap.edu/openbook/0309069351/html
- www.sennutrition.org
- www.nutrition.org
- www.sciencedirect.com/science/journal/08915849
- verlag.hanshuber.com/ezm/index/VIT

1.21. Vitaminas con función de coenzimas

Fermín Sánchez de Medina Contreras

Capítulo 1.21.

Vitaminas con función de coenzimas

1. Introducción

2. Tiamina
2.1. Estructura y propiedades
2.2. Absorción y metabolismo
2.3. Funciones metabólicas
2.4. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales
2.5. Deficiencia y estados carenciales
2.6. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

3. Riboflavina
3.1. Estructura y propiedades
3.2. Absorción y metabolismo
3.3. Funciones metabólicas
3.4. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales
3.5. Deficiencia y estados carenciales
3.6. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

4. Niacina
4.1. Estructura y propiedades
4.2. Absorción y metabolismo
4.3. Biosíntesis de niacina
4.4. Funciones metabólicas
4.5. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales
4.6. Deficiencia y estados carenciales
4.7. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

5. Ácido pantoténico
5.1. Estructura y propiedades
5.2. Absorción y metabolismo
5.3. Funciones metabólicas
5.4. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales
5.5. Deficiencia y estados carenciales
5.6. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

6. Piridoxina
6.1. Estructura y propiedades
6.2. Absorción y metabolismo
6.3. Funciones metabólicas
6.4. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales

6.5. Deficiencia y estados carenciales
6.6. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

7. Biotina
7.1. Estructura y propiedades
7.2. Absorción y metabolismo
7.3. Funciones metabólicas
7.4. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales
7.5. Deficiencia y estados carenciales
7.6. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

8. Vitamina K
8.1. Estructura y propiedades
8.2. Absorción y metabolismo
8.3. Funciones metabólicas
8.4. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales
8.5. Deficiencia y estados carenciales
8.6. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

9. Resumen

10. Bibliografía

11. Enlaces web

Objetivos

- Obtener una visión general del papel de las vitaminas tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantoténico, piridoxina y biotina en el metabolismo intermediario.
- Comprender la relación entre la estructura química de los compuestos vitamínicos, sus propiedades fisicoquímicas y su función biológica.
- Conocer de forma esquemática los procesos de absorción de las vitaminas, las formas circulantes y la formación de los coenzimas correspondientes.
- Conocer con cierta profundidad las funciones coenzimáticas de los derivados vitamínicos en el metabolismo intermediario.
- Conocer las fuentes alimentarias más importantes de estas vitaminas y el efecto de las principales manipulaciones culinarias o industriales sobre su estabilidad química.
- Tener información sobre las ingestas dietéticas recomendadas y/o las ingestas adecuadas de cada una de estas vitaminas.
- Tener una visión general de las alteraciones patológicas características de la deficiencia vitamínica, relacionándolas con los trastornos metabólicos que las originan.
- Conocer las indicaciones terapéuticas de estas vitaminas y la existencia en su caso de problemas por dosificación excesiva.

1. Introducción

Las vitaminas constituyen un grupo de sustancias químicamente heterogéneas y cuyas funciones son también muy diversas. Muchas de ellas comparten, sin embargo, un mecanismo de acción común: la participación como coenzimas en el metabolismo de los macronutrientes. Dentro de este grupo de vitaminas se pueden considerar dos subgrupos. El primero de ellos está constituido por tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantoténico, piridoxina y biotina. Estas vitaminas ejercen sus funciones fisiológicas como coenzimas que actúan de manera muy general en el metabolismo, y son las que se van a considerar en este Capítulo. Al otro subgrupo pertenecen la vitamina B_{12} y el ácido fólico. Estas vitaminas se caracterizan también por su actuación metabólica como coenzimas, pero en este caso sus funciones coenzimáticas están implicadas especialmente y de manera directa en los fenómenos proliferativos (*ver Capítulo 1.22*). Aunque la vitamina C interviene de forma que se puede consierar coenzimática en algunas reacciones, su función principal es la de ser un agente antioxidante, por lo que se estudia con detalle en el Capítulo 1.20. Otra vitamina que tiene funciones coenzimáticas es la vitamina K. En este caso, se trata de reacciones de carboxilación sobre restos de glutamato en proteínas implicadas en procesos tales como la coagulación o el metabolismo óseo.

Las vitaminas del subgrupo con funciones coenzimáticas generales pertenecen al llamado "complejo B"; son todas hidrosolubles, están ampliamente distribuidas en los alimentos, no se almacenan especialmente en el organismo y no suelen producir toxicidad por sobredosificación.

Las deficiencias en algunas de estas vitaminas han tenido relevancia histórica (beri-beri, pelagra) y son todavía importantes en algunos países subdesarrollados. En los países industrializados, sin embargo, estas deficiencias vitamínicas tienen menos repercusiones clínicas. De una manera general, se pueden establecer las siguientes causas o circunstancias para dichas deficiencias:

a) Desnutrición originada por hábitos de alimentación inadecuados, especialmente el consumo de alimentos ricos en calorías pero deficientes en vitaminas y minerales. Esta situación es importante, sobre todo en niños, embarazadas y madres lactantes, por el aumento en las necesidades específicas de vitaminas en estas etapas de la vida. También se puede producir una situación similar en los deportistas y en las personas que utilizan dietas hipocalóricas para adelgazar.

b) Malabsorción originada por alteraciones gastrointestinales diversas.

c) Consumo elevado de alcohol. En estas personas pueden coincidir las dos causas que se acaban de citar. Por una parte, los alcohólicos suelen comer menos, ya que el alcohol aporta una notable cantidad de calorías. Por otra parte, el alcohol produce alteraciones gastrointestinales y hepáticas que limitan mucho la absorción y la metabolización de los nutrientes en general. Además, el propio alcohol necesita el concurso de algunas de estas vitaminas para su metabolismo.

d) Consumo de medicamentos. Existe un considerable número de fármacos que pueden interferir en la absorción o la metabolización correcta de algunas de estas vitaminas: antiácidos, anticonceptivos, esteroides, isoniazida, etc.

e) Los ancianos constituyen un grupo de riesgo importante puesto que en estas personas pueden coincidir los desequilibrios dietéticos con los problemas absortivos y el consumo de alcohol y medicamentos.

Algunas de las vitaminas de este subgrupo (especialmente tiamina y pirodoxina) se utilizan en el tratamiento de alteraciones neurológicas diversas, síndromes dolorosos, intoxicación alcohólica, etc. Por otra parte, el ácido nicotínico (una de las formas químicas de la niacina) tiene un importante efecto hipolipemiante cuando se utilizan dosis muy altas.

En este Capítulo se van a considerar especialmente los aspectos metabólicos de las vitaminas con funciones coenzimáticas. Se describirán también las fuentes alimentarias principales y los procesos de absorción, transporte y metabolismo, las consecuencias patológicas de las deficiencias, la evaluación del estado nutricional y la posible utilización terapéutica. Las pérdidas por los procedimientos tecnológicos se estudian con detalle en el Capítulo 2.19. Por otra parte, en los Capítulos 2.1 y 2.2 se aportan datos más completos sobre las fuentes alimentarias de estas vitaminas y sobre la evaluación del estado nutricional.

2. Tiamina

La tiamina desempeña un papel fundamental en el metabolismo de los hidratos de carbono a través de la formación de su derivado coenzimático tiamina pirofosfato (TPP). Este coenzima interviene en la formación de acetil-CoA a partir de piruvato, en una etapa del ciclo de Krebs, en varias etapas de la vía de las pentosas fosfato y en la metabolización de los aminoácidos ramificados. La deficiencia en tiamina produce sobre todo alteraciones neurológicas.

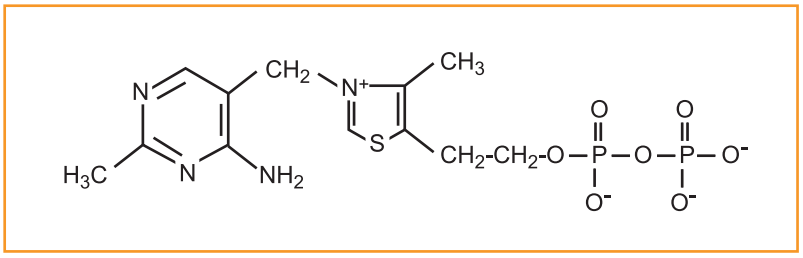


Figura 1. *Estructura química del pirofosfato de tiamina (TPP).*

2.1. Estructura química y propiedades

La tiamina (vitamina B_1, aneurina, vitamina antineurítica) está constituida por un anillo pirimidínico y un anillo tiazólico, unidos por un metileno, y con diversos grupos funcionales sustituyentes. Entre estos grupos destaca un radical β-hidroxietilo que puede fosforilarse para originar la forma coenzimática activa, tiamina pirofosfato (TPP o cocarboxilasa) **(Figura 1)**. La carga positiva del nitrógeno tiazólico confiere un ligero carácter básico a la tiamina, por lo que las formas comerciales de esta vitamina son sales. Esa carga positiva del nitrógeno facilita la pérdida de un protón en el carbono situado entre el nitrógeno y el azufre, induciendo la formación de un carbanión muy reactivo, que es la base del mecanismo de acción del TPP. El resto de la molécula es imprescindible también para la acción biológica de la tiamina, porque las moléculas resultantes de modificaciones leves en su estructura química no sólo carecen de actividad, sino que se comportan como antagonistas, como es el caso de la oxitiamina y piritiamina, dos compuestos sintéticos.

En su forma más habitual de clorhidrato, la tiamina se presenta como cristales solubles en agua, algo menos en alcohol e insolubles en disolventes orgánicos. Es una molécula termolábil y sensible a la oxidación y a los sulfitos, que destruyen su actividad biológica.

2.2. Absorción y metabolismo

Las formas coenzimáticas de la tiamina se hidrolizan por fosfatasas intestinales. La vitamina se absorbe fundamentalmente en el yeyuno por un proceso de transporte activo. Cuando las cantidades de vitamina son muy grandes, se satura el sistema activo y funciona entonces un proceso de difusión pasiva.

La tiamina es transportada al hígado por vía portal. En este órgano

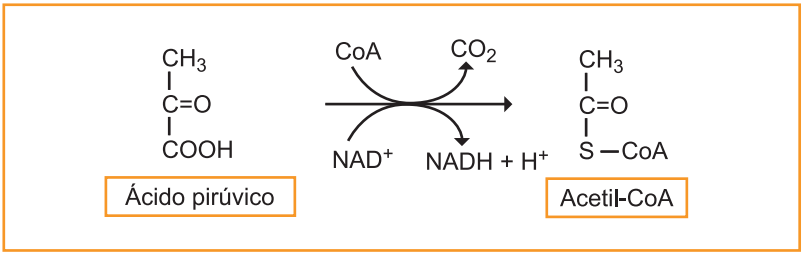


Figura 2. *Formación del acetil-CoA a partir de piruvato en reacción catalizada por la piruvato deshidrogenasa. CoA: coenzima A; NAD: nicotín-adenín-dinucleótido; NADH: nicotín-adenín-dinucleótido reducido.*

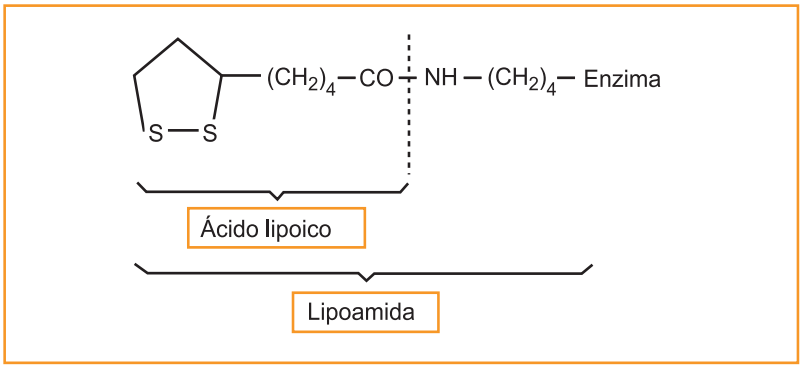


Figura 3. *Estructura química del ácido lipoico y de la lipoamida.*

se realiza su fosforilación, pero la mayor parte de la vitamina circulante no está fosforilada. La transformación en TPP se produce en cada tejido. Es interesante resaltar que las cantidades de tiamina que se encuentran en los tejidos son muy pequeñas por lo que no puede hablarse propiamente de tiamina almacenada. Por eso, los niveles tisulares adecuados de tiamina dependen de su aporte alimentario continuo.

Una vez utilizada la vitamina en su forma coenzimática, es degradada rápidamente por el hígado con producción de numerosos metabolitos inactivos que se eliminan por la orina.

2.3. Funciones metabólicas

El pirofosfato de tiamina participa como coenzima en algunas reacciones clave del metabolismo de los hidratos de carbono:

a) Descarboxilación oxidativa del piruvato (formación de acetil-CoA). Reacción catalizada por la piruvato deshidrogenasa.

b) Descarboxilación oxidativa del α-cetoglutarato (formación de succinil-CoA). Reacción catalizada por la α-cetoglutarato deshidrogenasa.

c) Transcetolaciones. Reacciones catalizadas por diversas transcetolasas en la vía de las pentosas fosfato.

Las descarboxilaciones oxidativas del piruvato y del α-cetoglutarato son reacciones similares muy complejas en las que intervienen también otros coenzimas. La descarboxilación oxidativa del piruvato origina acetil-CoA **(Figura 2)**. Este metabolito no es solamente el combustible del ciclo de Krebs, sino que, además, puede ser utilizado para la síntesis de ácidos grasos, colesterol, acetil-colina, etc. La descarboxilación oxidativa del α-cetoglutarato es una etapa importante del ciclo de Krebs.

En todas estas descarboxilaciones oxidativas intervienen complejos multienzimáticos y un gran número de coenzimas. A título de ejemplo, se describe a continuación la transformación del piruvato en acetil-CoA.

El complejo multienzimático que realiza la descarboxilación oxidativa del piruvato recibe el nombre genérico de piruvato deshidrogenasa. A su vez, este complejo está constituido por tres tipos de enzimas: piruvato deshidrogenasa, dihidrolipoil transacetilasa y dihidrolipoil deshidrogenasa. Cada una de estas enzimas está representada por varias unidades proteicas, de manera que el complejo resulta de un gran peso molecular.

Para que se produzca la descarboxilación oxidativa del piruvato se necesita además la colaboración de cinco coenzimas: TPP, NAD, FAD, coenzima A y ácido lipoico. El NAD y el FAD son coenzimas de óxido-reducción derivados, respectivamente, de la niacina y de la riboflavina. El coenzima A deriva del ácido pantoténico. Todos ellas se tratarán a continuación en este mismo Capítulo. El ácido lipoico no tiene carácter vitamínico. Su estructura química corresponde al ácido ditío-octanoico. Está unido covalentemente a la dihidrolipoil transacetilasa mediante un enlace amida con un resto ε-amino de lisina **(Figura 3)**.

La reacción transcurre en varias etapas. El primer paso consiste en la descarboxilación del piruvato, que está catalizada por la piruvato deshidrogenasa,

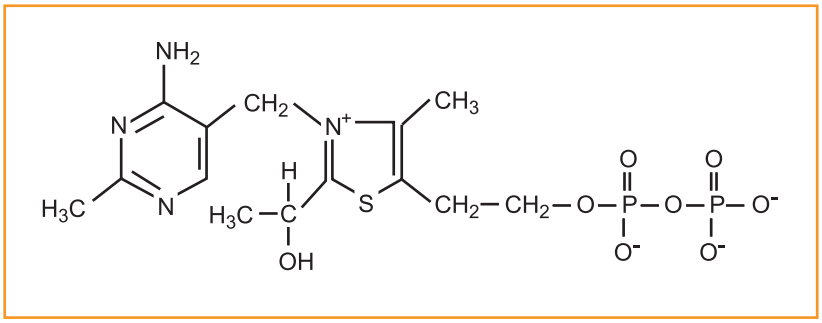


Figura 4. *Estructura química del hidroxietil-TPP. TPP: pirofosfato de tiamina.*

el primero de los tres tipos de enzimas del complejo multienzimático. Esta enzima es precisamente la que utiliza el TPP como coenzima. El piruvato se une covalentemente al carbono del anillo tiazólico situado entre el nitrógeno y el azufre. Como ya se ha indicado, este carbono es muy reactivo por la influencia de la carga positiva del nitrógeno. Una vez formado el compuesto de adición entre piruvato y TPP, tiene lugar una reordenación electrónica que origina la descarboxilación del piruvato. El compuesto resultante recibe el nombre de "acetaldehído activo" o, más propiamente, "hidroxietil-TPP" **(Figura 4).**

El segundo paso consiste en la transferencia del acetaldehído activo al resto de ácido lipoico que esta unido a la segunda enzima: la dihidrolipoil transacetilasa. En esta reacción queda libre el TPP, y el resto de acetaldehído queda convertido en un acetilo, mientras que el resto de ácido lipoico queda convertido en dihidrolipoico. A su vez, este acetilo es transferido al coenzima A en una reacción catalizada también por la dihidrolipoil transacetilasa. Así, se llega a la formación del acetil-CoA. El resto de reacciones tiene por objeto la reconstitución de las molé-

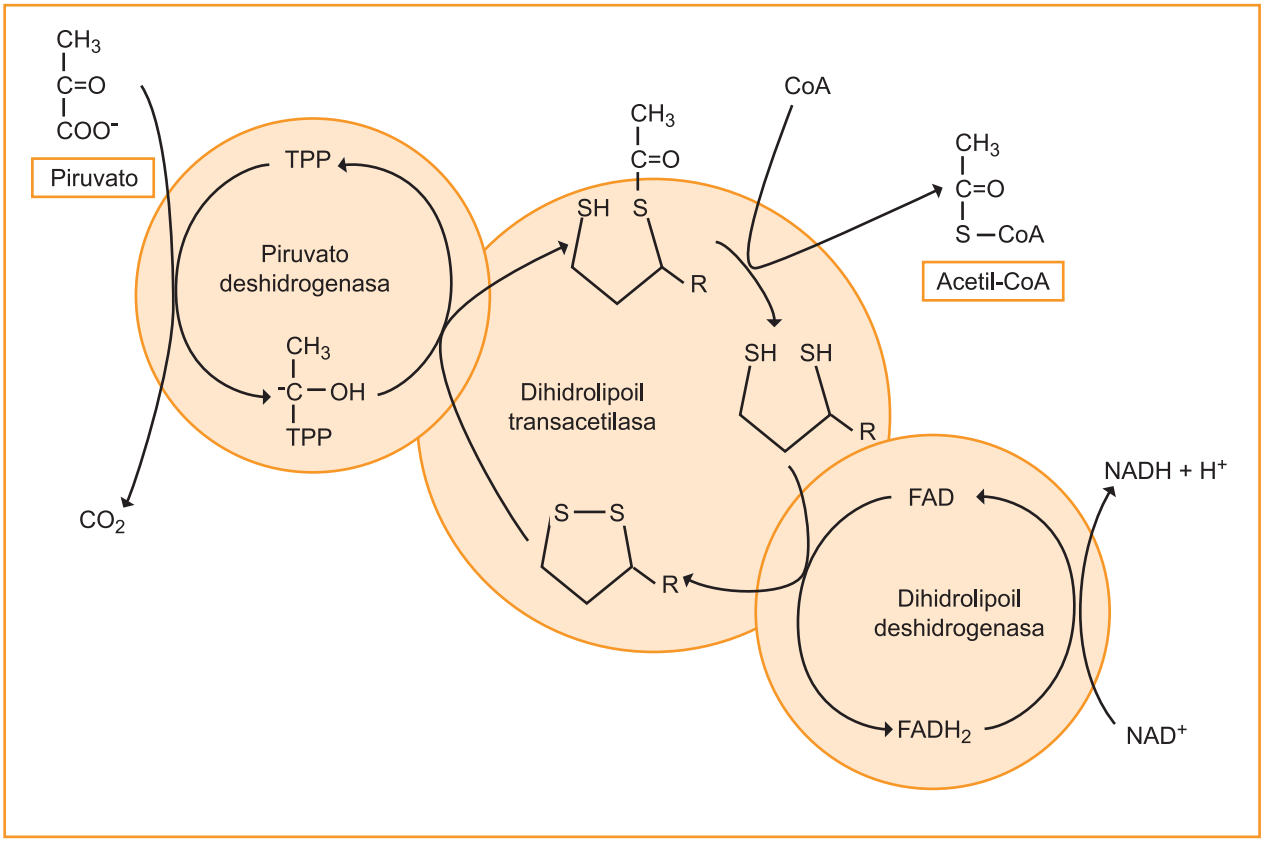


Figura 5. *Mecanismo del complejo piruvato deshidrogenasa. TPP: pirofosfato de tiamina; CoA: coenzima A; FAD: flavín-adenín-dinucleótido; $FADH_2$: flavín-adenín-dinucleótido reducido; NAD: nicotín-adenín-dinucleótido; NADH: nicotín-adenín-dinucleótido reducido.*

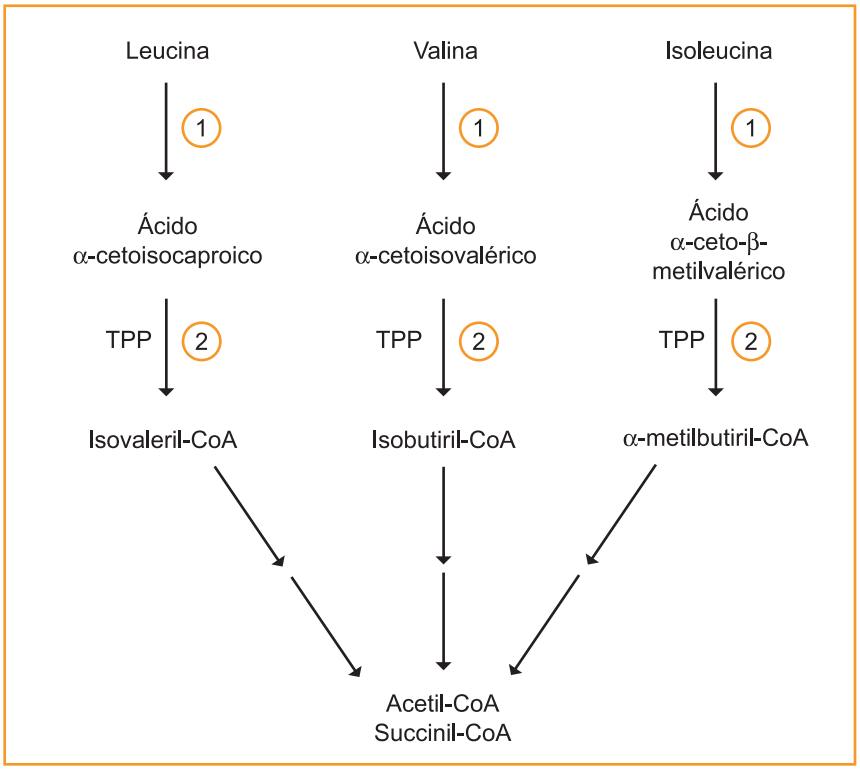


Figura 6. *Esquema simplificado del catabolismo de los aminoácidos ramificados. 1: transaminación; 2: descarboxilación oxidativa.*

culas coenzimáticas originales para asegurar la continuidad del proceso. El ácido dihidrolipoico es oxidado a lipoico por la enzima dihidrolipoil deshidrogenasa, mediante el concurso del FAD que pasa a $FADH_2$. Finalmente, el FAD se regenera y se reduce el NAD **(Figura 5)**.

Como puede observarse, la dihidrolipoil transcetilasa ocupa un papel central en esta serie de reacciones. De hecho, las proteínas con esta actividad enzimática se encuentran en el interior del complejo multienzimático. Ello permite que la cadena formada por la lipoamida pueda desplazarse entre las otras proteínas enzimáticas (piruvato deshidrogenasa y dihidrolipoil deshidrogenasa) para realizar adecuadamente las transferencias moleculares descritas.

Como se consideró en el Capítulo 1.2 (*ver apartado 3.2.2*), el complejo de la α-cetoglutarato deshidrogenasa se regula por la inhibición de los productos finales inmediatos, NADH y succinil-CoA, así como por el ATP (producido ulteriormente en la cadena respiratoria). La regulación de la piruvato deshidrogenasa es similar, ya que resulta inhibida por NADH, acetil-CoA y ATP.

Las reacciones de transcetolación intervienen en las transformaciones de azúcares que se producen en el ciclo de las pentosas fosfato, vía metabólica que tiene como funciones principales la síntesis de NADPH (para la formación de ácidos grasos, colesterol, hormonas esteroides, etc.) y ribosa-fosfato (para la síntesis de nucleótidos y ácidos nucleicos) (*ver Capítulo 1.9*).

Además de estas reacciones implicadas en el metabolismo de los hidratos de carbono, el pirofosfato de tiamina participa como coenzima en la utilización energética de los aminoácidos ramificados (valina, leucina e isoleucina) (*ver Capítulo 1.14*). Estos aminoácidos pierden el grupo amino, originando los correspondientes cetoácidos, que sufren entonces el proceso de la descarboxilación oxidativa, de manera análoga al piruvato y α-cetoglutarato. El catabolismo de los aminoácidos ramificados origina finalmente acetil-CoA y succinil-CoA, que se integran en el ciclo de Krebs **(Figura 6)**.

Los errores genéticos en la cetoácido descarboxilasa que interviene en el metabolismo de los aminoácidos ramificados están asociados a la leucinosis o "enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce" (*ver Capítulo 4.14*), en la que se eliminan por la orina los cetoácidos no metabolizados.

En la **Figura 7** se esquematiza el papel del pirofosfato de tiamina en el metabolismo energético. Como puede observarse, la tiamina desarrolla un papel fundamental en el metabolismo glucídico. Por ello, su carencia afecta sobre todo a los tejidos que dependen, en gran parte, de este suministro energético, como el cerebro y el músculo cardiaco. Además, las necesidades nutricionales de tiamina dependen lógicamente de la cantidad de hidratos de carbono de la dieta.

La tiamina parece tener, por otra parte, un papel específico en el sistema nervioso, adicionalmente a su intervención en la formación de acetil-colina.

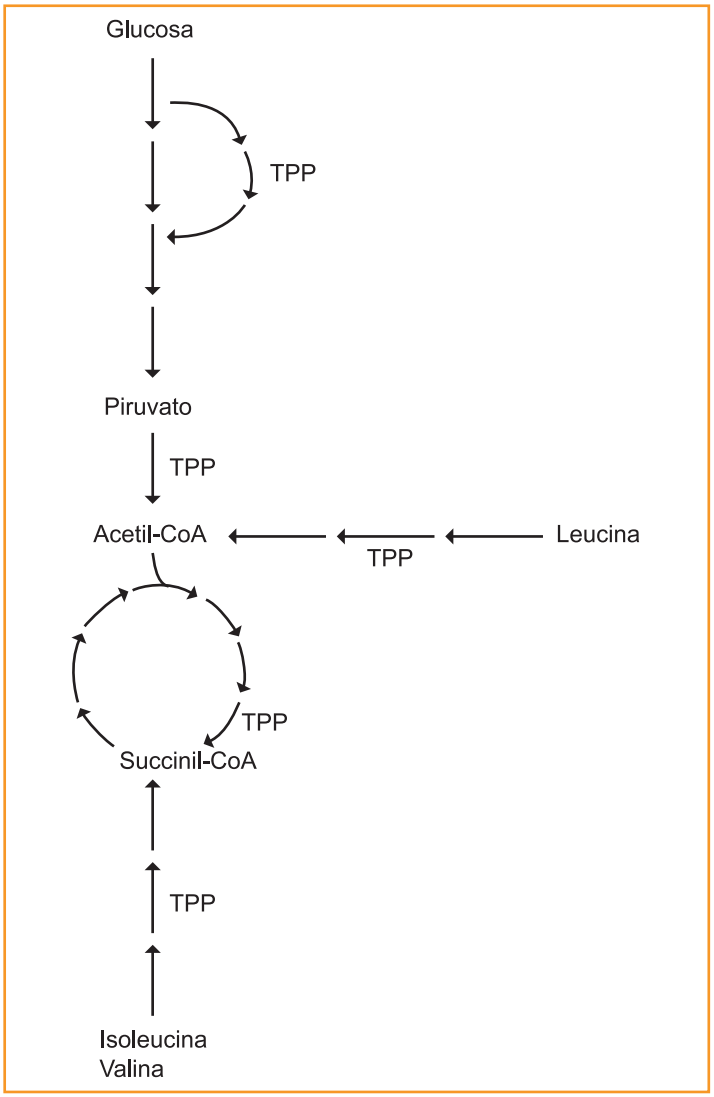


Figura 7. *Papel del TPP (pirofosfato de tiamina) en el metabolismo energético.*

En efecto, el cerebro tiene la capacidad de sintetizar un derivado trifosforilado de la tiamina, el TTP. Este derivado se integra en la membrana celular y parece desempeñar una función importante en los fenómenos de conducción nerviosa actuando como donador de fosfato.

2.4. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales

La tiamina se encuentra ampliamente distribuida en los alimentos, aunque generalmente en pequeña cantidad. Dentro del mundo vegetal, la tiamina se encuentra en cantidades relativamente importantes en los cereales (especialmente en el pericarpio), levadura de cerveza y legumbres secas, siendo muy escasa su presencia en las frutas. En estos alimentos, la tiamina aparece en su forma vitamínica libre. En cambio, en los alimentos de origen animal, la forma predominante es el pirofosfato de tiamina. Las principales fuentes animales de tiamina son la carne y el hígado, especialmente si son de origen porcino.

Como ya se ha mencionado, la tiamina es una molécula termolábil y sensible a la oxidación y a los sulfitos. Por eso, determinadas manipulaciones culinarias o industriales pueden destruir gran parte de la tiamina en los alimentos. Así, la tiamina se altera al calentar en agua a 100 °C en medio alcalino. En cambio, no se afecta prácticamente por la congelación. Por otra parte, algunos pescados contienen tiaminasas, enzimas que destruyen la molécula vitamínica. Además, en ciertos vegetales (coles, hojas de té, etc.) se encuentran compuestos polihidroxifenólicos que inactivan la tiamina por oxidación. Las necesidades nutricionales son difíciles de precisar, pero las organizaciones internacionales recomiendan como mínimo de 1 a 1,5 mg diarios para los adultos. Es importante resaltar que la ausencia de reservas orgánicas importantes hace necesario el aporte cotidiano de las cantidades recomendadas **(Tabla 1)**. Por otra parte, las necesidades dependen en gran parte de la ingesta de hidratos de carbono, como ya se ha comentado.

2.5. Deficiencia y estados carenciales

La deficiencia de tiamina origina una enfermedad denominada beri-beri, que fue descrita a finales del siglo XIX en el sudeste asiático, donde la base de la alimentación era el arroz descascarillado (siendo la cutícula precisamente la parte más rica en tiamina). La sintomatología inicial está constituida por astenia, anorexia, alteraciones gastrointestinales y debilidad muscular. Posteriormente, aparecen los signos clínicos de la

Tabla I. INGESTAS DIETÉTICAS RECOMENDADAS (RDA) O INGESTAS ADECUADAS (IA) PARA LA TIAMINA

Grupo/edad	RDA/IA*(mg/día)
0-6 meses	0,2*
7-12 meses	0,3*
1-3 años	0,5
4-8 años	0,6
Varones	
9-13 años	0,9
14-más de 70 años	1,2
Mujeres	
9-13 años	0,9
14-18 años	1,0
19-más de 70 años	1,1
Embarazo	1,4
Lactancia	1,4

Fuente: Dietary Reference Intakes. Food and Nutrition Board. National Academy of Sciences, 1998.

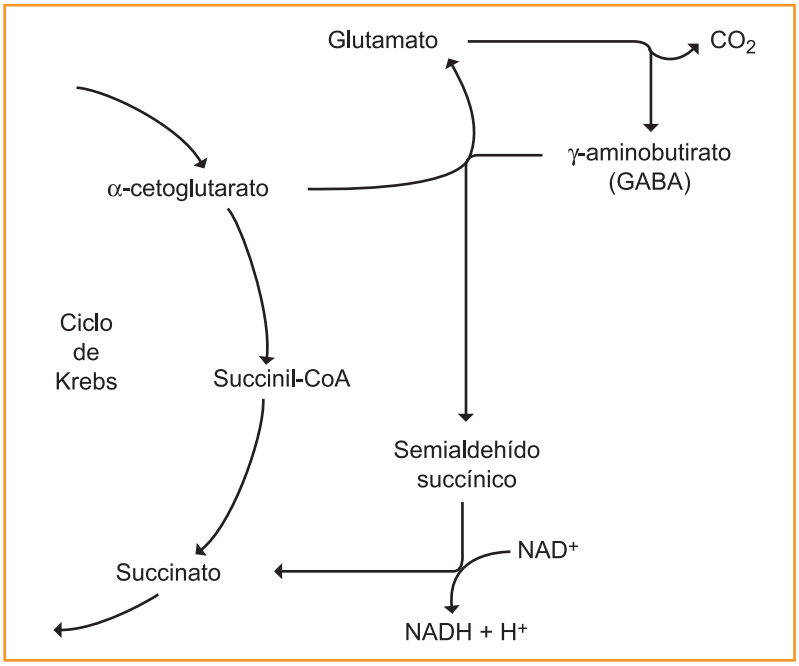


Figura 8. *Ciclo del ácido γ-aminobutírico (GABA). NAD: nicotín-adenín-dinucleótido; NADH: nicotín-adenín-dinucleótido reducido.*

polineuritis (beri-beri seco) o los problemas cardiovasculares que originan la formación de edema (beri-beri húmedo). La afectación cerebral puede ser muy grave (encefalopatía de Wernike y síndrome de Korsakoff).

Cuando la madre tiene carencia de tiamina, el recién nacido puede desarrollar una forma aguda gravísima de beri-beri. Ésta es una de las causas más importantes de mortalidad perinatal en el sudeste asiático, donde el arroz descascarillado continúa siendo la base de la alimentación.

Aunque las alteraciones neurológicas debidas a la deficiencia de tiamina pueden explicarse razonablemente por su papel en el metabolismo energético cerebral, existen datos que sugieren otros mecanismos adicionales. Concretamente, la falta de eficacia de la enzima α-cetoglutarato deshidrogenasa debida a la carencia de pirofosfato de tiamina podría originar el funcionamiento incrementado de una vía alternativa denominada vía del GABA **(Figura 8)**. Con el funcionamiento de esta vía metabólica se garantiza el suministro de ATP a través del ciclo de Krebs, pero, además, el aumento en la síntesis del ácido γ-aminobutírico (GABA) puede explicar la anorexia característica de esta situación, ya que este aminoácido inhibe el apetito a través de su acción hipotalámica.

En los países industrializados pueden desarrollarse carencias en tiamina por el consumo casi exclusivo de alimentos muy refinados, la anorexia, el alcoholismo, las alteraciones gastrointestinales, el exceso de hidratos de carbono en la dieta (deportistas) y la nutrición parenteral total a base de glucosa. También pueden existir deficiencias de esta vitamina de forma secundaria a la tirotoxicosis, ya que en esta situación aumentan los requerimientos de tiamina por el aumento del ritmo metabólico.

Para confirmar el diagnóstico de una deficiencia en tiamina se puede recurrir a su determinación en plasma o a la medida de su excreción urinaria. Más útil es su estimación indirecta por medio de la valoración de la actividad transcetolasa eritrocitaria, que es una

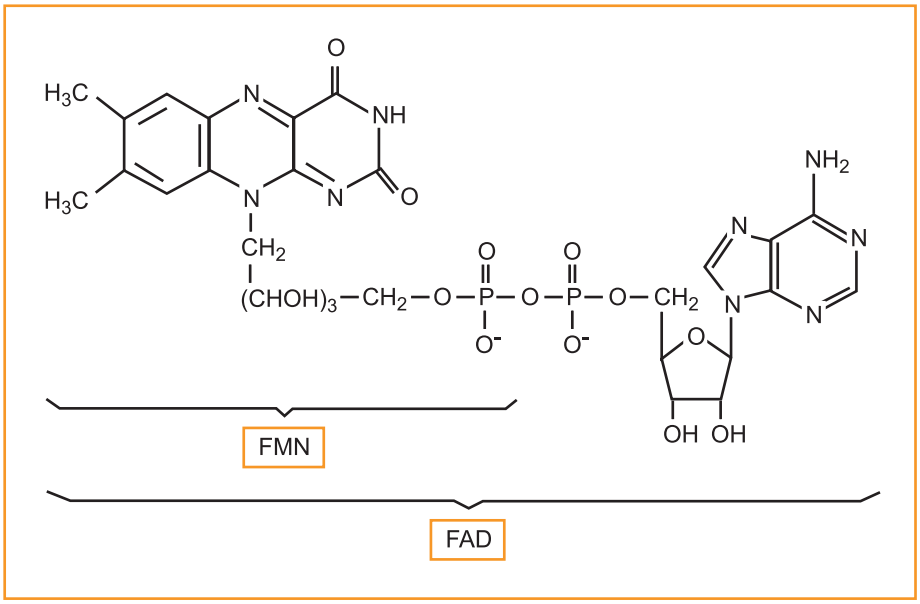


Figura 9. *Estructura química de los coenzimas derivados de la riboflavina. FMN: flavín-mononucleótido; FAD: flavín-adenín-dinucleótido.*

enzima muy sensible a la falta de su coenzima, la tiamina pirofosfato (*ver Capítulo 2.2*).

2.6. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

Además de su indicación específica en los estados carenciales, la tiamina se utiliza comúnmente en el tratamiento de enfermedades con sintomatología semejante: polineuritis, neuritis y síndromes dolorosos de etiología diversa. Algunas enfermedades congénitas del metabolismo responden a dosis altas de tiamina, cuando el fallo enzimático radica en la afinidad por el TPP, como ocurre en algunos casos de leucinosis (*ver Capítulo 4.14*).

El exceso de tiamina no produce efectos nocivos por lo general y no puede hablarse, por tanto, de hipervitaminosis B_1. Se han observado, sin embargo, fenómenos de sensibilización en algunos sujetos tras su administración endovenosa repetida.

3. Riboflavina

La riboflavina desempeña un papel fundamental en el metabolismo de los hidratos de carbono, de los lípidos y de los aminoácidos, a través de la formación de los coenzimas denominados FMN (flavín-mononucleótido) y FAD (flavín-adenín-dinucleótido). Estos coenzimas están íntimamente unidos a las enzimas correspondientes (flavoenzimas), que catalizan reacciones de óxido-reducción. Por ello, estas enzimas forman parte también de la defensa antioxidante celular. Aunque los derivados coenzimáticos de la riboflavina no participan directamente en los fenómenos de proliferación celular, su importancia fundamental en el metabolismo puede explicar que la deficiencia en esta vitamina se manifieste especialmente en los tejidos de recambio celular más rápido como son la piel y los epitelios.

3.1. Estructura y propiedades

La riboflavina (vitamina B_2, lactoflavina) es un derivado de un compuesto flavínico, la isoaloxacina. Tiene carácter básico débil, cristaliza en agujas amarillentas y es soluble en agua, pero mucho menos que otras vitaminas de su grupo. Es resistente al calor y a la oxidación, estable en solución ácida pero inestable en solución alcalina y especialmente sensible a la luz ultravioleta, que la destruye de manera irreversible formando lumiflavina, si es en medio alcalino, o lumicromo, si es en medio ácido o neutro.

La riboflavina tiene dos derivados coenzimáticos responsables de su actividad biológica, FMN (flavín-mononucleótido) y FAD (flavín-adenín-dinucleótido), que son mucho más solubles en agua **(Figura 9)**.

3.2. Absorción y metabolismo

La mayor parte de la riboflavina de la leche se encuentra libre. En los demás orígenes alimenta-

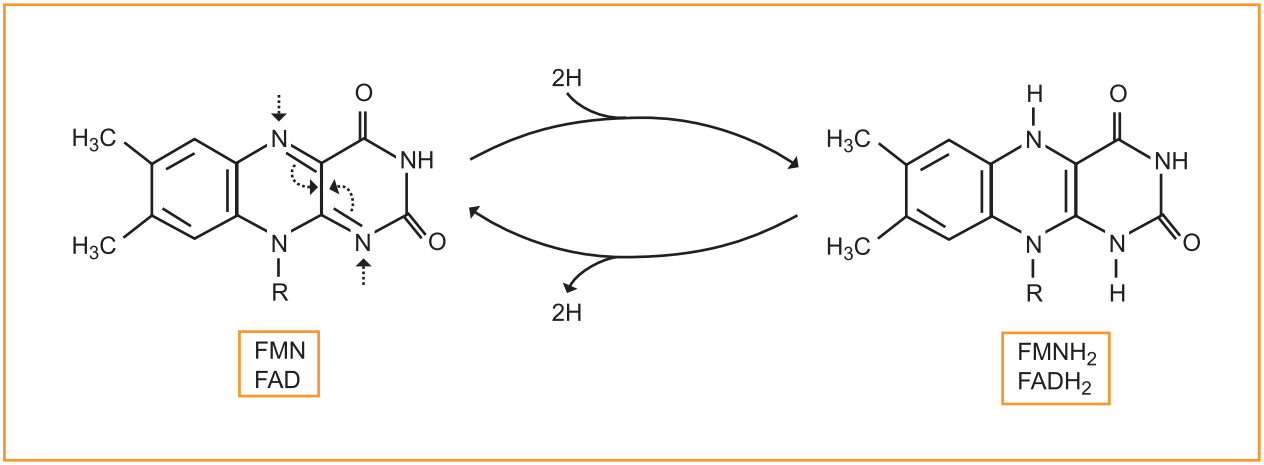


Figura 10. *Formas oxidada y reducida del FMN (flavín-mononucléotido) y FAD (flavín-adenín-dinucleótido).*

rios (tejidos vegetales y animales) esta vitamina se encuentra sobre todo en forma coenzimática, unida estrechamente a las apoenzimas correspondientes. La separación de las formas coenzimáticas se realiza en el estómago, mientras que la vitamina se libera por la acción de pirofosfatasas y fosfatasas inespecíficas intestinales.

La riboflavina se absorbe en la parte proximal del intestino delgado por un proceso de transporte activo saturable que parece incluir procesos de fosforilación-defosforilación. La secreción biliar favorece la absorción de la riboflavina y existe una cierta circulación enterohepática de la misma. En la mucosa intestinal se pueden formar de nuevo los derivados coenzimáticos, aunque la vitamina sólo pasa a la circulación portal en forma libre.

En la sangre, la riboflavina circula unida en cierta proporción a la albúmina aunque presenta más afinidad por las inmunoglobulinas. Es interesante señalar que durante el embarazo se forman unas proteínas que ligan específicamente a la riboflavina y pueden ayudar a transportarla al feto.

La capacidad de formar derivados coenzimáticos es grande en casi todos los tejidos, especialmente en el hígado, riñón y miocardio, donde hay un cierto almacenamiento de estos coenzimas ligados a las apoproteínas correspondientes. El hígado es sede de su metabolización degradativa, que es escasa, eliminándose fundamentalmente la riboflavina sin modificar tanto por la orina y el sudor como por vía biliar, dada su precaria hidrosolubilidad. La riboflavina se excreta también por la glándula mamaria.

3.3. Funciones metabólicas

El FMN y el FAD se encuentran estrechamente unidos a un gran número de proteínas (flavoproteínas o flavoenzimas) que realizan funciones de transporte electrónico a través de procesos de óxido-reducción. En algunos casos, estas reacciones implican la transferencia de dos electrones, de manera que tanto el FMN como el FAD aceptan los dos átomos de hidrógeno cedidos por el sustrato. En estos casos, se produce la transformación del anillo de la isoaloxacina descrita en la **Figura 10**. Un ejemplo típico de estas reacciones es el paso de succinato a fumarato en el ciclo de Krebs, reacción catalizada por la succinato deshidrogenasa (*ver Capítulo 1.2*). Otra reacción de este tipo, de gran interés metabólico, es la oxidación de los acil-CoA por las acil-CoA deshidrogenasas, que constituye una etapa fundamental en el catabolismo mitocondrial de los ácidos grasos (*ver Capítulo 1.12*).

En otros casos, estos coenzimas pueden aceptar un solo electrón, originando una especie química estable del tipo semiquinona. Esta clase de reacciones es esencial en las cadenas de transporte electrónico mitocondriales (cadenas respiratorias). Concretamente, los electrones del $FADH_2$ ligado a la acil-CoA deshidrogenasa (enzima que se acaba de citar) se transfieren a otra flavoproteína denominada ETF (***E**lectron **T**ransferring **F**lavoprotein*: flavoproteína transferidora de electrones) por este mecanismo. A su vez, esta proteína transfiere los electrones a unas proteínas con hierro y azufre que tienen actividad ETF: ubiquinona reductasa.

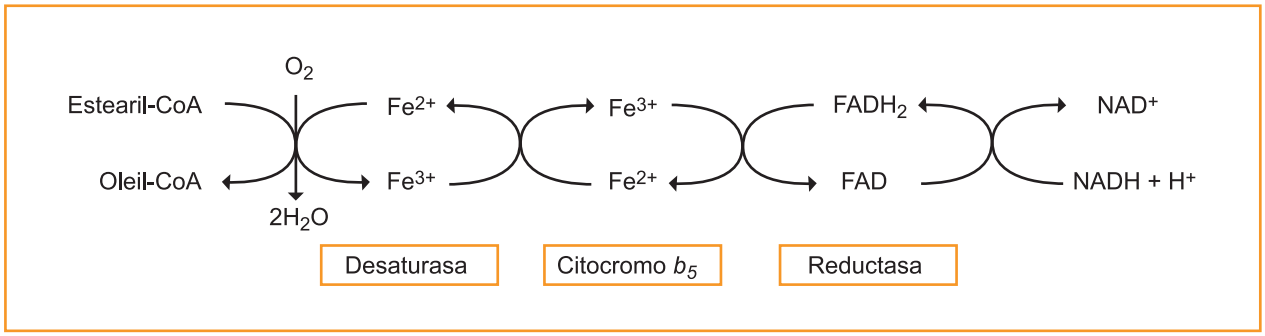


Figura 11. *Mecanismo de acción de las desaturasas de los ácidos grasos. FAD: flavín-adenín-dinucléotido; NAD: nicotín-adenín-dinucleótido.*

Finalmente, el aceptor de los electrones es la ubiquinona.

También se producen estas reacciones en las cadenas de transporte electrónico localizadas en el retículo endoplásmico (cadenas de transporte electrónico microsomal). Existen dos tipos principales de estas cadenas. Una de ellas realiza la desaturación de los ácidos grasos. En este proceso están involucradas proteínas enzimáticas (desaturasas), citocromos (citocromo b_5) y flavoproteínas. Como se puede observar en la **Figura 11**, existe un transporte electrónico desde el NADH hasta el oxígeno, como en las cadenas respiratorias. La diferencia es que en este caso se utilizan también los hidrógenos del sustrato para formar el agua, originando así la formación del doble enlace.

Otras cadenas de transporte electrónico microsomal realizan la hidroxilación de moléculas con núcleo esteroide, posibilitando, por ejemplo, la formación del colesterol y del 1,25 dihidroxi-calciferol (o calcitriol). Este sistema funciona de manera análoga al anterior, aunque se trata de un proceso más complicado. En este caso, la fuente de electrones es el NADPH en vez del NADH, y se utiliza un citocromo especial denominado citocromo P-450, además de las correspondientes proteínas enzimáticas y flavoproteínas. Como se trata de enzimas de muy poca especificidad de sustrato, este sistema realiza también oxidaciones sobre moléculas exógenas (xenobióticos) tales como el alcohol y los fármacos.

Una capacidad adicional de las flavoenzimas es la de reaccionar directamente con el oxígeno, formando agua oxigenada. Así funciona, por ejemplo, la xantín oxidasa, enzima responsable de la formación del ácido úrico (*ver Capítulo 1.16*).

Dada la gran versatilidad de los coenzimas derivados de la riboflavina, no es extraño que existan numerosas enzimas flavínicas. La mayoría de ellas están involucradas en el metabolismo oxidativo de los nutrientes en sus distintas etapas. Pero, además, algunas forman parte de la defensa antioxidante, como la glutatión reductasa (*ver Capítulo 1.19*) o se utilizan en la biosíntesis de otros coenzimas, como el piridoxal fosfato (*ver más adelante*) o el 5'-metil tetrahidrofólico (*ver Capítulo 1.22*). Por todo ello, es fácil deducir que la deficiencia en riboflavina puede influir en muchas áreas bioquímicas. Sin embargo, faltan todavía evidencias experimentales y clínicas que relacionen de forma clara las alteraciones biológicas características de los estados carenciales con los puntos metabólicos afectados.

3.4. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales

La riboflavina abunda en la leche (por eso recibe también el nombre de lactoflavina) y se encuentra en cantidades relativamente importantes en los tejidos animales (sobre todo en las vísceras), pescado, huevos y vegetales verdes.

Como se ha indicado anteriormente, la riboflavina es estable al calor, por lo que no le afectan los tratamientos térmicos culinarios. Sin embargo, la exposición a la luz puede originar pérdidas vitamínicas sustanciales.

La dosis recomendada para adultos varones es de 1,3 mg/día, siendo un poco menor para las mujeres (1,1 mg/día), excepto durante el embarazo y la lactancia. Los requerimientos de riboflavina aumentan cuando lo hace la ingesta calórica o proteica,

Tabla 2. INGESTAS DIETÉTICAS RECOMENDADAS (RDA) O INGESTAS ADECUADAS (IA) PARA LA RIBOFLAVINA

Grupo/edad	RDA/IA*(mg/día)
0-6 meses	0,3*
7-12 meses	0,4*
1-3 años	0,5
4-8 años	0,6
Varones	
9-13 años	0,9
14-más de 70 años	1,3
Mujeres	
9-13 años	0,9
14-18 años	1,0
19-más de 70 años	1,1
Embarazo	1,4
Lactancia	1,6

Fuente: Dietary Reference Intakes. Food and Nutrition Board. National Academy of Sciences, 1998.

aunque la dependencia no es tan acusada como en el caso de la tiamina para los hidratos de carbono **(Tabla 2)**.

3.5. Deficiencia y estados carenciales

La deficiencia aislada de riboflavina (arriboflavinosis) es muy rara, dada la abundancia de esta vitamina en los alimentos naturales. Los casos descritos responden casi siempre a hipovitaminosis generalizadas, siendo característica la producida por el consumo excesivo de alcohol, que interfiere con su digestión y absorción. El aporte inadecuado y los problemas de absorción pueden explicar también las carencias de riboflavina en los ancianos.

Un caso especial de deficiencia se puede producir en los recién nacidos hiperbilirrubinémicos tratados con fototerapia, ya que este tratamiento altera la estructura de la riboflavina. También se pueden producir deficiencias de riboflavina por la administración de ciertos medicamentos (clorpromazina, p. ej.) o en algunas alteraciones endocrinas (hipotiroidismo o insuficiencia adrenal).

Las carencias en riboflavina ocasionan generalmente la afectación de las mucosas, sobre todo de la lengua (glositis) y de los labios (queilitis), así como la hipervascularización de la córnea. Aparecen, además, lesiones cutáneas seborreicas. Como se ha comentado en un apartado anterior, puede entenderse perfectamente que la deficiencia en riboflavina ocasione alteraciones patológicas muy diversas, dado su papel fundamental en todo tipo de reacciones metabólicas. A pesar de ello, no resulta fácil establecer una relación clara entre los fallos bioquímicos y las lesiones originadas. Es posible que algunas de estas lesiones estén ocasionadas, al menos en parte, por la disminución en la síntesis del piridoxal-fosfato, coenzima necesario para la formación del colágeno maduro (*ver Capítulo 4.38*), y, por tanto, para la fortaleza de la piel.

En ocasiones, la deficiencia de riboflavina puede ir acompañada de una anemia microcítica. Parece que esta vitamina facilitaría tanto la absorción del hierro como su movilización a partir de los depósitos de ferritina.

Para evitar la deficiencia en riboflavina es fundamental la recomendación de guardar la leche (una de sus mejores fuentes alimentarias) en envases opacos, para que no se destruya la vitamina por la luz.

Para confirmar el diagnóstico de este tipo de deficiencia se puede acudir a la determinación de la excreción urinaria de la vitamina o a la determinación de la actividad glutatión reductasa eritrocitaria, enzima que es muy sensible a la falta de FAD.

3.6. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

No existen indicaciones terapéuticas especiales claras para la riboflavina, a excepción de su indicación específica en la hipovitaminosis correspondiente. Por otra parte, la excreción de la riboflavina es directamente proporcional a su ingesta, por lo que no existen casos de hipervitaminosis.

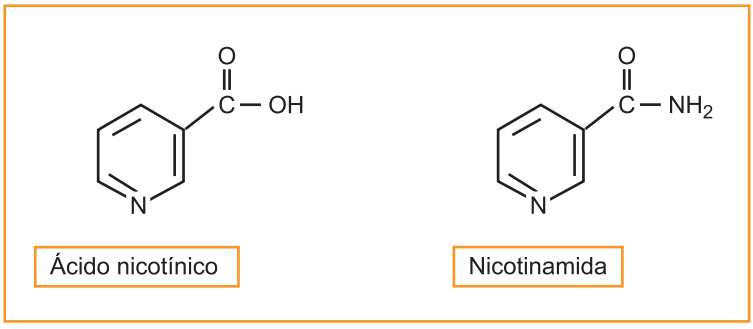


Figura 12. *Estructura química del ácido nicotínico y de la nicotinamida.*

4. Niacina

El término niacina designa dos especies químicas relacionadas y fácilmente interconvertibles: ácido nicotínico y nicotinamida. Las formas coenzimáticas de la nicotinamida (NAD y NADP) son esenciales en el metabolismo, colaborando con enzimas que catalizan reacciones de óxido-reducción. El NAD (nicotín-adenín-dinucleótido) funciona fundamentalmente transportando el hidrógeno de los nutrientes a las cadenas de transporte electrónico mitocondrial. El NADP (nicotín-adenín-dinucleótido-fosfato) se utiliza preferentemente en funciones biosintéticas. Un aspecto peculiar de esta vitamina es que puede sintetizarse en parte en el organismo a partir del triptófano. La deficiencia en niacina produce alteraciones clínicas muy diversas (trastornos gastrointestinales, dermatitis, trastornos neurológicos, etc.). Por otra parte, el ácido nicotínico se puede emplear a dosis muy altas como hipolipemiante.

4.1. Estructura y propiedades

Con la denominación de niacina (vitamina B_3, factor PP -preventivo de la pelagra-) se engloba al ácido nicotínico, a la nicotinamida y a los demás compuestos relacionados metabólicamente **(Figura 12)**. El ácido nicotínico y la nicotinamida son solubles en agua y alcohol. Son muy estables tanto al calor como a la luz, a la oxidación y a los cambios de pH. A partir de la nicotinamida se originan dos dinucleótidos con actividad biológica, que se denominan NAD (nicotín-adenín-dinucleótido) y NADP (nicotín-adenín-dinucleótido-fosfato) **(Figura 13)**.

4.2. Absorción y metabolismo

Tanto el ácido nicotínico como la nicotinamida se absorben a lo largo del intestino delgado por un proceso de difusión facilitada, que es suplementado por un mecanismo de difusión pasiva cuando aumentan las cantidades ingeridas.

La niacina se transporta en el plasma como ácido nicotínico y nicotinamida, no ligados a proteínas. Ambas moléculas entran en los tejidos por difusión pasiva, aunque en algunos casos se ha demostrado la existencia de sistemas específicos que facilitan la captura tisular. Los tejidos transforman estos compuestos en los coenzimas NAD y NADP. Generalmente, la cantidad de NAD es superior a la de NADP, estando este último coenzima, sobre todo, en forma reducida (NADPH). El principal producto de la degradación de la niacina es la N-metil nicotinamida, que se excreta por vía urinaria.

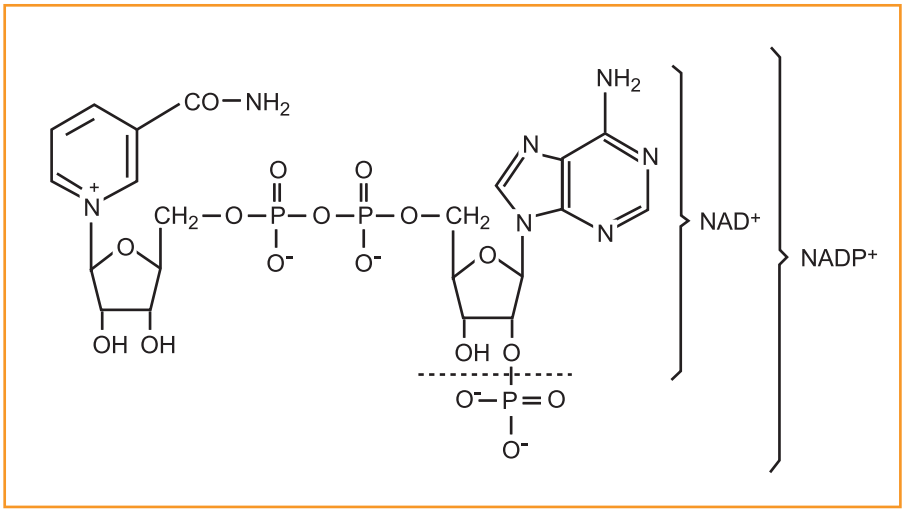


Figura 13. *Estructura química del NAD (nicotín-adenín-dinucleótido) y del NADP (nicotín-adenín-dinucleótido-fosfato).*

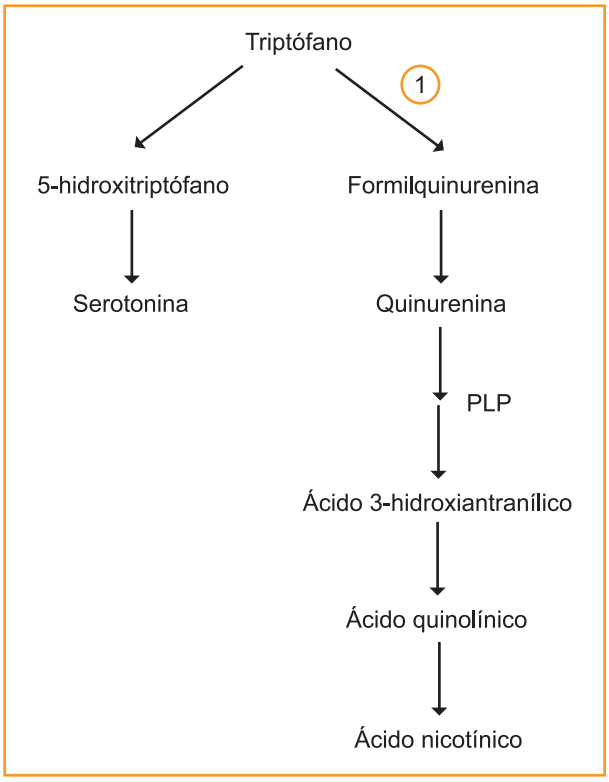


Figura 14. *Biosíntesis de ácido nicotínico a partir de triptófano. 1: triptófano oxigenasa. PLP: piridoxal-fosfato.*

4.3. Biosíntesis de niacina

Aunque la mayor parte de los requerimientos de niacina provienen de los alimentos, existe una cierta síntesis endógena de ácido nicotínico a partir de triptófano, que los complementa **(Figura 14)**. La cantidad de ácido nicotínico que se forma por esta vía es difícil de precisar, porque depende de muchos factores, entre ellos la ingesta de proteínas y piridoxina, así como los niveles de cortisol, hormona que induce la triptófano oxigenasa. En cualquier caso, se puede estimar que se forma, al menos, 1 mg de vitamina por cada 60 mg de triptófano. Esta relación puede no ser tan válida en situaciones tales como el ayuno o el embarazo, porque el triptófano puede utilizarse en estos casos para otros destinos metabólicos.

4.4. Funciones metabólicas

El NAD y el NADP participan en multitud de reacciones de óxido-reducción (más de 200), en el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos y aminoácidos. En estas reacciones, la nicotinamida sufre la transformación que se describe en la **Figura 15**. Las enzimas que utilizan estos coenzimas sólo se asocian a las mismas durante el transcurso de la reacción, de manera que el NAD y el NADP permanecen generalmente libres en la célula, al contrario que los coenzimas derivados de la riboflavina.

Aunque existen muchas excepciones, se puede establecer de manera general que el NAD colabora sobre todo con enzimas mitocondriales conectadas con la cadena respiratoria (*ver Capítulo 1.2*), mientras que el NADP colabora con enzimas citoplasmáticas, de tal modo que el NADPH originado en la oxidación de los diferentes sustratos se utiliza en procesos biosintéticos: formación de ácidos grasos, colesterol, hormonas esteroides, etc.

Además de su participación en reacciones de óxido-reducción, el NAD puede transferir una parte de su molécula (ADP-ribosa) a determinadas proteínas **(Figura 16)**. La principal enzima que utiliza este tipo de transferencia es la poli-ADP-ribosa polimerasa (PARP). Se trata de una enzima

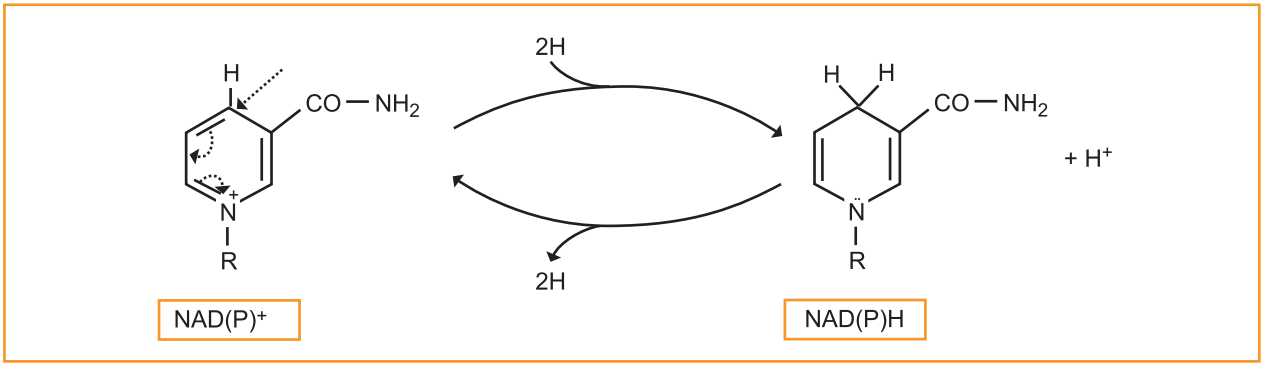


Figura 15. *Formas oxidada y reducida del NAD(P) [nicotín-adenín-dinucleótido (fosfato)].*

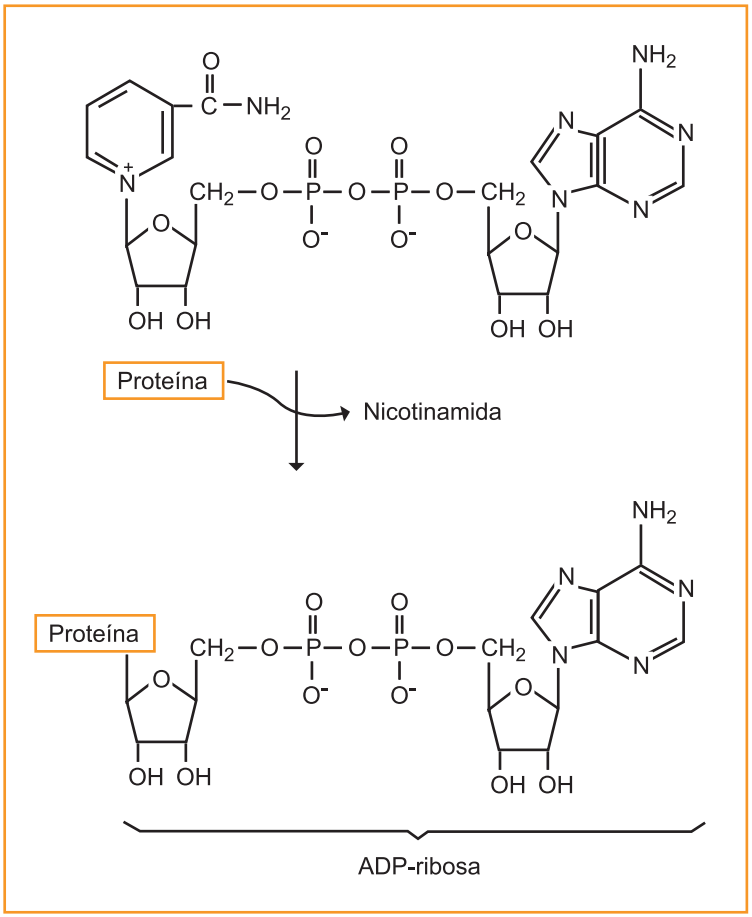


Figura 16. *Reacción catalizada por la PARP (poli-ADP-ribosa polimerasa). ADP: adenosín-difosfato.*

localizada en el núcleo celular que cataliza la poliadenilación de proteínas diversas. Estas proteínas están implicadas en funciones trascendentales para la célula, como la replicación del DNA, la regulación de la transcripción y, muy especialmente, la reparación del DNA alterado por fenómenos oxidativos (*ver Capítulo 1.19*). En este caso, la poliadenilación modifica la arquitectura de la cromatina en la vecindad de las zonas afectadas del DNA, permitiendo así el reclutamiento de las proteínas reparadoras. Es interesante resaltar que este proceso requiere un considerable gasto de NAD.

Otro aspecto interesante de la niacina es su participación en la composición del llamado "factor de tolerancia a la glucosa". Se trata de un complejo de niacina y cromo que se encuentra en la levadura y que parece facilitar la respuesta a la insulina (*ver Capítulo 1.30*). La función de este complejo, sin embargo, no está bien establecida todavía.

4.5. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales

La niacina está ampliamente distribuida en la naturaleza. Los alimentos más ricos en niacina son las vísceras, pescados, harinas y leguminosas. En el maíz y en los cereales se encuentra formando parte de ésteres no hidrolizables por el organismo y, por tanto, no utilizables. El tratamiento con álcalis hidroliza estos ésteres, facilitando así su utilización nutricional.

Como la niacina se puede sintetizar en el organismo a partir del triptófano (*ver apartado 4.4*), es importante también tener en cuenta el aporte de este aminoácido por la dieta. Se consideran entonces los "equivalentes de niacina" (EN) para referirse a la cantidad de niacina en los alimentos más la cantidad de triptófano dividida entre 60, de acuerdo con la proporción de triptófano utilizada para la síntesis de niacina. Se calcula que las cantidades necesarias de niacina podrían cubrirse teóricamente con la ingestión de unos 100 g de proteínas.

Como existe una vía de formación endógena, los requerimientos se cubren sobre todo a partir de la propia vitamina, pero debe considerarse también el aporte proteico, como ya se ha comentado. Por lo que se refiere a la niacina, los requerimientos pueden estimarse en un mínimo de 16 mg/día para los hombres y de 14 para las mujeres, debiéndose aumentar en 4 mg durante el embarazo y 3 mg durante la lactancia **(Tabla 3)**.

4.6. Deficiencia y y estados carenciales

La enfermedad carencial característica de la niacina es la pelagra, descrita ya en el siglo XVIII por el médico español Gaspar Casal, que la observó en los campesinos asturianos y a la que denominó "mal de la rosa". La enfermedad aparece cuando la base de la alimentación es el maíz, que contiene niacina no utilizable y poco triptófano. En los paí-

ses industrializados las deficiencias en niacina no suelen ser puras y obedecen a las causas generales (desnutrición, alcoholismo, etc.), a las que hay que añadir, además, las siguientes:

a) Alimentación casi exclusiva a base de maíz, sorgo, mijo o centeno. Estos alimentos son pobres en niacina, pero, además, contienen mucha leucina, aminoácido que se comporta como antivitamina, aunque por mecanismos no bien esclarecidos.

b) Pacientes con enfermedad de Hartnup. La absorción de aminoácidos neutros es deficiente en estos individuos, por lo que se produce una carencia de triptófano y disminuye la síntesis endógena de vitamina.

c) Pacientes con carcinoides de intestino. Posiblemente, la gran producción de serotonina por estos tumores origina una disminución de la vía de producción de ácido nicotínico.

d) Pacientes tratados con isoniazida, benzerazida o carbidopa. Estos fármacos se unen al piridoxal fosfato formando complejos inactivos, lo que impide la formación de ácido nicotínico por interrupción de la etapa en la que interviene este coenzima.

La clínica clásica de la pelagra incluye signos cutáneos (dermatitis), digestivos (diarreas y vómitos) y nerviosos (irritabilidad, delirio, alucinaciones y confusión mental). Por eso, se le ha llamado a veces la enfermedad de las tres "D": dermatitis, diarrea y demencia. Como en el caso de la deficiencia en riboflavina, no es fácil relacionar estos signos clínicos con las alteraciones bioquímicas correspondientes.

Para confirmar el diagnóstico de hipovitaminosis se recurre a la determinación de la excreción de N-metil nicotinamida en orina.

Tabla 3. INGESTAS DIETÉTICAS RECOMENDADAS (RDA), INGESTAS ADECUADAS (IA) Y MÁXIMO NIVEL DE INGESTA SIN RIESGO PARA LA NIACINA*

Grupo/edad	RDA/IA* (mg/día)	Máximo nivel de ingesta sin riesgo (mg/día)
0-6 meses	2*	No determinado
7-12 meses	4*	No determinado
1-3 años	6	10
4-8 años	8	15
Varones		
9-13 años	12	20
14-18 años	16	30
19-más de 70 años	16	35
Mujeres		
9-13 años	12	20
14-18 años	14	30
19-más de 70 años	14	35
Embarazo		
Hasta 18 años	18	30
19-50 años	18	35
Lactancia		
Hasta 18 años	17	30
19-50 años	17	35

** Teniendo en cuenta los equivalentes en niacina (EN), 1 mg de niacina equivale a 60 mg de triptófano. Sin embargo, los lactantes hasta los 6 meses de edad deben tomar sólo niacina.*
Fuente: Dietary Reference Intakes. Food and Nutrition Board. National Academy of Sciences, 1998.

4.7. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

Adicionalmente al empleo en los cuadros hipovitamínicos correspondientes, la principal indicación terapéutica del ácido nicotínico es como hipolipemiante, aunque a dosis muy altas (3-12 g), con muchos efectos secundarios. Las dosis adecuadas para el tratamiento

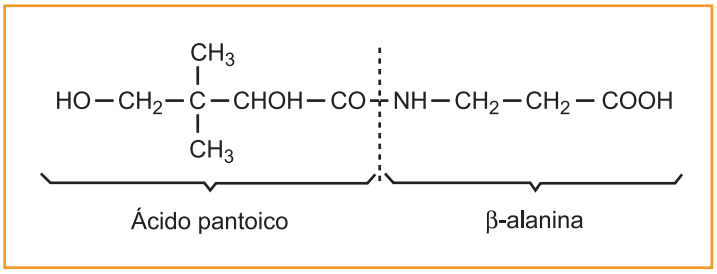


Figura 17. *Estructura química del ácido pantoténico.*

de la hipovitaminosis son del orden de 500 mg diarios, en los casos más graves, por lo que no hay riesgo importante de toxicidad. En la **Tabla 3** se indican las dosis diarias máximas de niacina que no dan lugar a efectos secundarios. Como en el caso de la tiamina, también se han descrito reacciones anafilácticas cuando la administración se realiza por vía endovenosa, aunque las dosis sean moderadas.

5. Ácido pantoténico

El ácido pantoténico tiene dos derivados coenzimáticos de gran importancia biológica. La ACP (***A**cyl **C**arrier **P**rotein*: proteína transportadora de acilos) forma parte del complejo enzimático utilizado para la síntesis de los ácidos grasos, por lo que resulta imprescindible en la lipogénesis. El coenzima A se necesita para activar metabólicamente todos los restos acilo, incluyendo tanto los ácidos grasos como los metabolitos ácidos originados en el catabolismo de los hidratos de carbono y de algunos aminoácidos. Resulta, por tanto, esencial en el aprovechamiento energético de todo tipo de macronutrientes. Dada su abundancia en los alimentos, las deficiencias aisladas de ácido pantoténico son muy raras.

5.1. Estructura y propiedades

El ácido pantoténico (antigua vitamina B_5) está constituido por una molécula de ácido pantoico (3 dimetil, 2,4 dihidroxibutírico) unido por un enlace peptídico a la β-alanina **(Figura 17)**. Se trata de un compuesto soluble en agua, termolábil e inestable en medio ácido o alcalino.

La unión de una molécula de β-tioetanolamina al resto de β-alanina del ácido pantoténico mediante la formación de un nuevo enlace peptídico origina un compuesto llamado panteteína. El éster fosfórico de este compuesto, la fosfopanteteína, es la base estructural del coenzima A y de la ACP, que son las formas biológicamente activas del ácido pantoténico.

En la ACP, la fosfopanteteína se une por su grupo fosfato a un residuo de serina de la proteína correspondiente **(Figura 18)**. En el coenzima A, la unión se hace a un derivado fosforilado del AMP **(Figura 19)**.

5.2. Absorción y metabolismo

El ácido pantoténico se encuentra en los alimentos fundamentalmente en forma de sus derivados activos, ACP y coenzima A, que son hidrolizados en el intestino. La vitamina se absorbe sobre todo en el yeyuno por un proceso de transporte activo. La circulación plasmática se hace en forma de vitamina libre, que es captada y transformada en sus formas activas por los tejidos. No existe

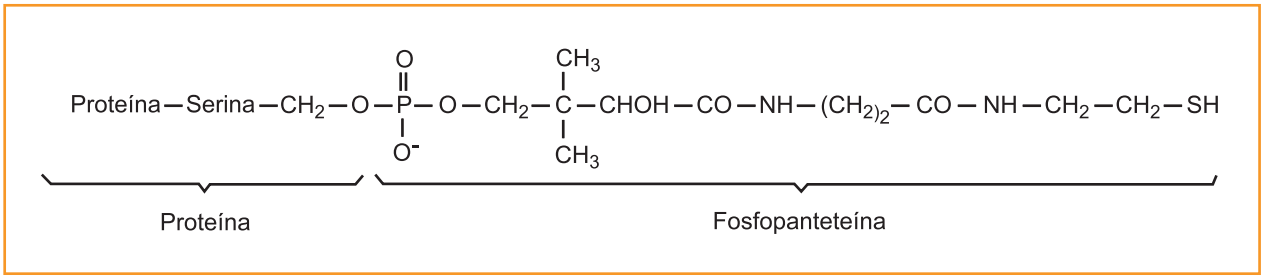


Figura 18. *Estructura química de la fracción coenzimática de la ACP (**A**cyl **C**arrier **P**rotein: proteína transportadora de acilos).*

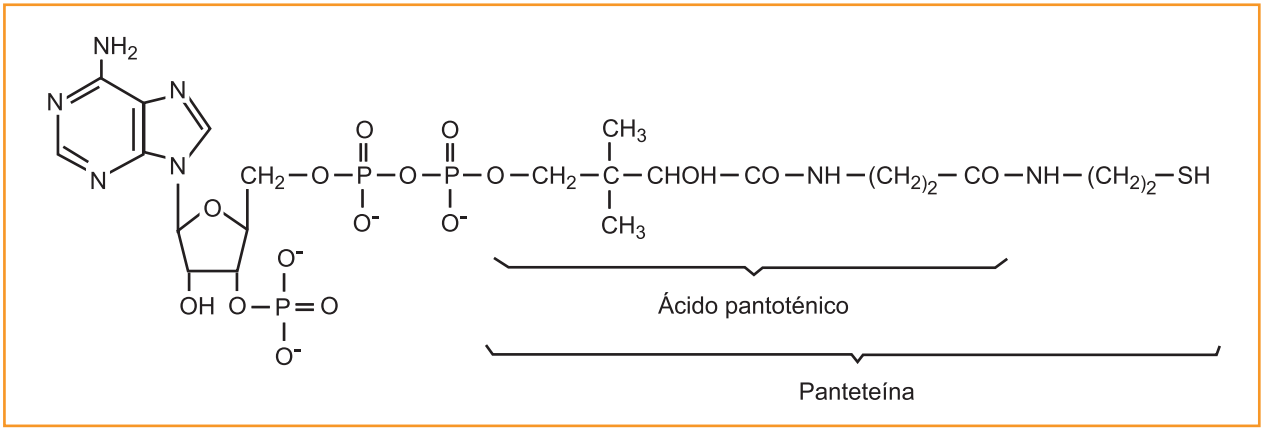


Figura 19. *Estructura química del coenzima A.*

casi metabolismo degradativo hepático, por lo que el ácido pantoténico se excreta como tal, especialmente por vía urinaria, aunque en parte también por las heces.

5.3. Funciones metabólicas

Tanto el coenzima A como la ACP se unen a los ácidos grasos por su grupo tiólico terminal originando tioésteres muy reactivos que facilitan su metabolización posterior.

a) La ACP interviene exclusivamente en la biosíntesis de los ácidos grasos, formando parte del complejo multienzimático de la sintetasa correspondiente (*ver Capítulo 1.12*).

b) Los acil-CoA son las formas activas de cualquier ácido graso o metabolito ácido para todas las demás vías metabólicas: degradación, síntesis de triglicéridos y lípidos complejos, formación de cuerpos cetónicos, síntesis de colesterol, síntesis de porfirinas, etc. En la **Figura 20** se esquematizan las principales vías metabólicas en las que interviene el coenzima A.

5.4. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales

El ácido pantoténico se encuentra prácticamente en todos los alimentos. Su nombre alude precisamente a este hecho (la palabra griega *pantos* significa "en todas partes"). En cualquier caso, es destacable que la carne, los cereales y las legumi-

nosas son muy ricas en ácido pantoténico. En cambio, las frutas y verduras contienen menos cantidad de esta vitamina.

Se estima que los adultos deben ingerir entre 4 y 5 mg de ácido pantoténico al día, aumentándose ligeramente la dosis durante el embarazo y la lactancia **(Tabla 4)**.

5.5. Deficiencia y estados carenciales

Dada su abundancia en la naturaleza, es excepcional la deficiencia grave de ácido pantoténico. Las carencias sólo se producen en los casos de desnutrición generalizada junto a otros déficit vitamínicos. Los signos y síntomas clínicos de la deficiencia se han obtenido de voluntarios tratados con antagonistas de la vitamina. Consisten en malestar general, alteraciones gastrointestinales, calambres musculares y alteraciones neurológicas.

La confirmación del diagnóstico de hipovitaminosis se puede realizar mediante la determinación de las concentraciones vitamínicas en plasma o de su excreción urinaria.

5.6. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

El ácido pantoténico se administra generalmente asociado a otras vitaminas. A dosis relativamente altas se ha utilizado para favorecer procesos de cicatrización, en el íleo paralítico postoperatorio,

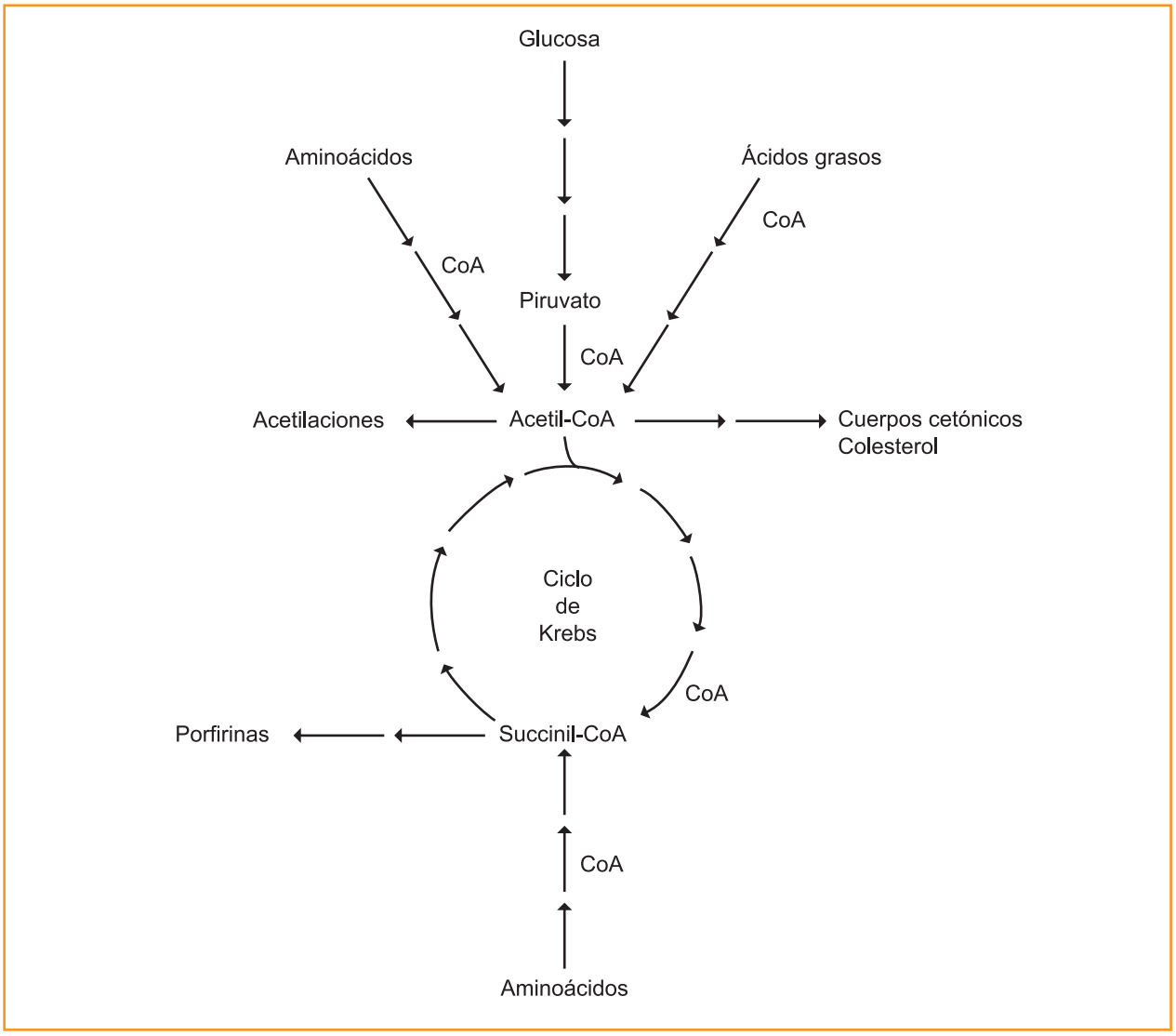


Figura 20. *Principales vías metabólicas en las que interviene el coenzima A.*

en las parestesias de miembros inferiores y como antialopécico, así como en la intoxicación por salicilatos, que se comportan como antivitaminas. No hay casos descritos de toxicidad cuando se utilizan dosis altas de esta vitamina.

6. Piridoxina

La piridoxina es uno de los tres derivados piridínicos interconvertibles que constituyen la vitamina B_6. El principal derivado de esta vitamina es el piridoxal-fosfato. Este coenzima colabora con un gran número de enzimas que intervienen sobre todo en el metabolismo de los aminoácidos. Las deficiencias aisladas de piridoxina no son frecuentes y originan especialmente problemas neurológicos. Por otra parte, la piridoxina es una de las vitaminas de este grupo con mayor empleo terapéutico.

6.1. Estructura y propiedades

La piridoxina (o piridoxol), el piridoxal y la piridoxamina son compuestos cíclicos derivados de

Tabla 4. INGESTAS ADECUADAS (IA) DE ÁCIDO PANTOTÉNICO

Grupo/edad	IA (mg/día)
0-6 meses	1,7
7-12 meses	1,8
1-3 años	2
4-8 años	3
Varones	
9-13 años	4
14-más de 70 años	5
Mujeres	
9-13 años	4
14-más de 70 años	5
Embarazo	6
Lactancia	7

Fuente: Dietary Reference Intakes. Food and Nutrition Board. National Academy of Sciences, 1998.

la piridina. Son metabólicamente interconvertibles y constituyen la vitamina B_6 **(Figura 21)**.

La piridoxina es la forma utilizada habitualmente en las preparaciones comerciales al estado de clorhidrato. Este último compuesto es muy soluble en agua, estable al calor (excepto si se encuentra en medio alcalino) e inestable frente a la luz cuando se encuentra en soluciones ácidas o neutras.

La forma activa de la piridoxina es el piridoxalfosfato (PLP), que actúa como coenzima de más de medio centenar de enzimas relacionados con el metabolismo de los aminoácidos. En las reacciones de transaminación también interviene la piridoxamina fosfato.

6.2. Absorción y metabolismo

Los derivados fosforilados de la vitamina B_6 son hidrolizados por fosfatasas inespecíficas en el intestino y son absorbidas, lo mismo que la piridoxina, en el yeyuno por un proceso de transporte activo.

Los coenzimas activos se originan fundamentalmente en el hígado, con el concurso del FMN. Posteriormente, se almacenan junto a las proteínas enzimáticas correspondientes, a las que el PLP se une de forma covalente mediante la formación de una base de Schiff (aldimina) con el grupo ε-amino de una lisina. El PLP es la forma mayoritaria de la vitamina B_6 en el plasma, donde circula unido covalentemente a la albúmina (formando también una aldimina).

De la misma manera, los eritrocitos transportan PLP unido a la hemoglobina. Las formas fosforiladas son captadas por los tejidos, pero son hidrolizadas en la membrana por la actividad de la fosfatasa alcalina. Una vez en el interior de las células se realiza de nuevo la fosforilación. El ácido piridóxico constituye el principal metabolito degradativo de la vitamina B_6. Se origina sobre todo en el hígado y se elimina junto al piridoxal por vía urinaria.

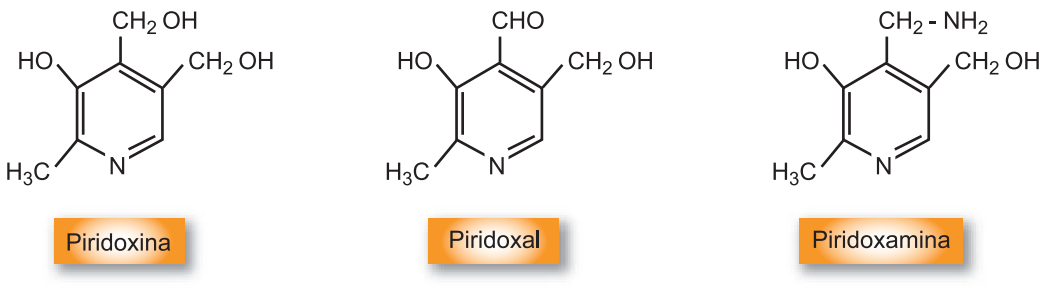


Figura 21. *Compuestos químicos que constituyen la vitamina B_6.*

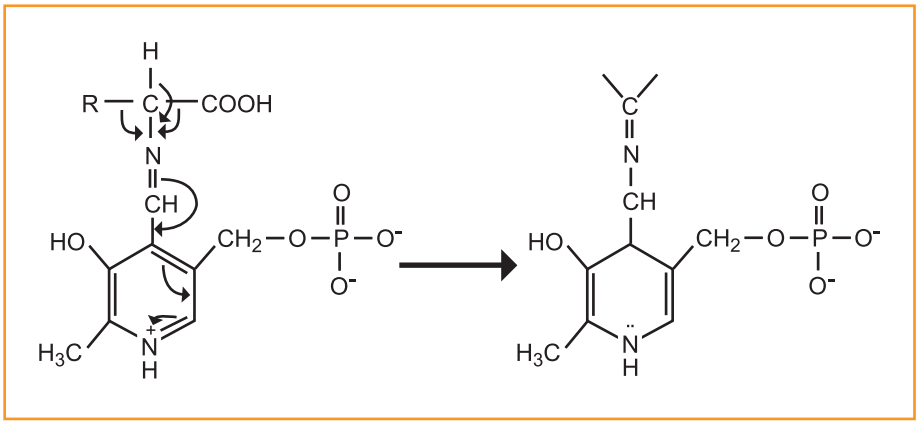


Figura 22. *Mecanismo de acción del piridoxal-fosfato (PLP).*

6.3. Funciones metabólicas

El PLP interviene fundamentalmente en el metabolismo de los aminoácidos. Las enzimas que utilizan este coenzima se unen al PLP mediante la formación de una base de Schiff entre el grupo aldehído del piridoxal y el grupo ε-amino de un resto de lisina situada en el centro activo de la enzima. Posteriormente, el sustrato de la reacción enzimática desplaza al resto de lisina para formar una nueva base de Schiff con su grupo α-amino. La carga positiva del nitrógeno piridínico actúa entonces como "un pozo de electrones", de manera que se produce la reordenación de los enlaces descrita en la **Figura 22**.

Al formarse un doble enlace entre el carbono en α y el nitrógeno amínico "sobra" alguno de los demás enlaces del carbono α. Se abren así tres posibilidades de reordenación que explican los distintos tipos de reacciones que experimentan los aminoácidos:

a) Pérdida de la cadena lateral del aminoácido. Este mecanismo se utiliza en varias reacciones del metabolismo de la treonina, la serina y los aminoácidos azufrados. Es destacable la reacción que se produce sobre la serina con producción de glicina y la metilación consiguiente del ácido tetrahidrofólico (*ver Capítulo 1.22*).

b) Pérdida del grupo carboxilo. Las reacciones de descarboxilación de los aminoácidos son muy numerosas, destacando por su trascendencia fisiológica las que originan aminas de carácter neurotransmisor: serotonina, GABA (ácido γ-aminobutírico), histamina, dopamina, etc. La descarboxilación de aminoácidos también origina aminas con otro interés biológico como la etanolamina (utilizable en la síntesis de lípidos complejos) o la taurina (que entra a formar parte de los conjugados con ácidos biliares). En otros casos, la descarboxilación está ligada con la formación de un nuevo enlace, como ocurre en la síntesis del grupo hemo (en la reacción catalizada por la δ-amino-levulínico sintetasa) y en la síntesis de esfingolípidos (en la reacción catalizada por la serina palmitoil transferasa).

c) Pérdida del hidrógeno. Esta última posibilidad explica las transaminaciones. A título de ejemplo, este mecanismo se explica con detalle en la **Figura 23**. Puede observarse que la entrada de un protón y la hidrólisis posterior del doble enlace entre carbono y nitrógeno origina un α-cetoácido. En una secuencia inversa, la formación de una base de Schiff entre otro α-cetoácido y la piridoxamina-fosfato originará un nuevo aminoácido y PLP. Las transaminaciones constituyen una etapa decisiva en la utilización catabólica de todos los aminoácidos y en la biosíntesis de los aminoácidos no esenciales.

Otras funciones del PLP están peor conocidas. Así, este coenzima se encuentra unido a la fosforilasa del glucógeno, aunque no se sabe muy bien su función específica. Parece que podría intervenir en la función catalítica de la enzima a través de su grupo fosfato. Datos recientes indican, por otra parte, que el PLP modula la acción del cortisol y otras hormonas esteroides, uniéndose a los correspondientes receptores nucleares. También se han descrito funciones inmunoestimulantes para este coenzima. Además, la unión del piridoxal o del PLP a la hemoglobina aumentan su afinidad por el oxígeno y disminuye los problemas relacionados con la anemia falciforme.

6.4. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales

En cualquiera de sus formas, la vitamina B_6 es muy abundante en los alimentos, especialmente

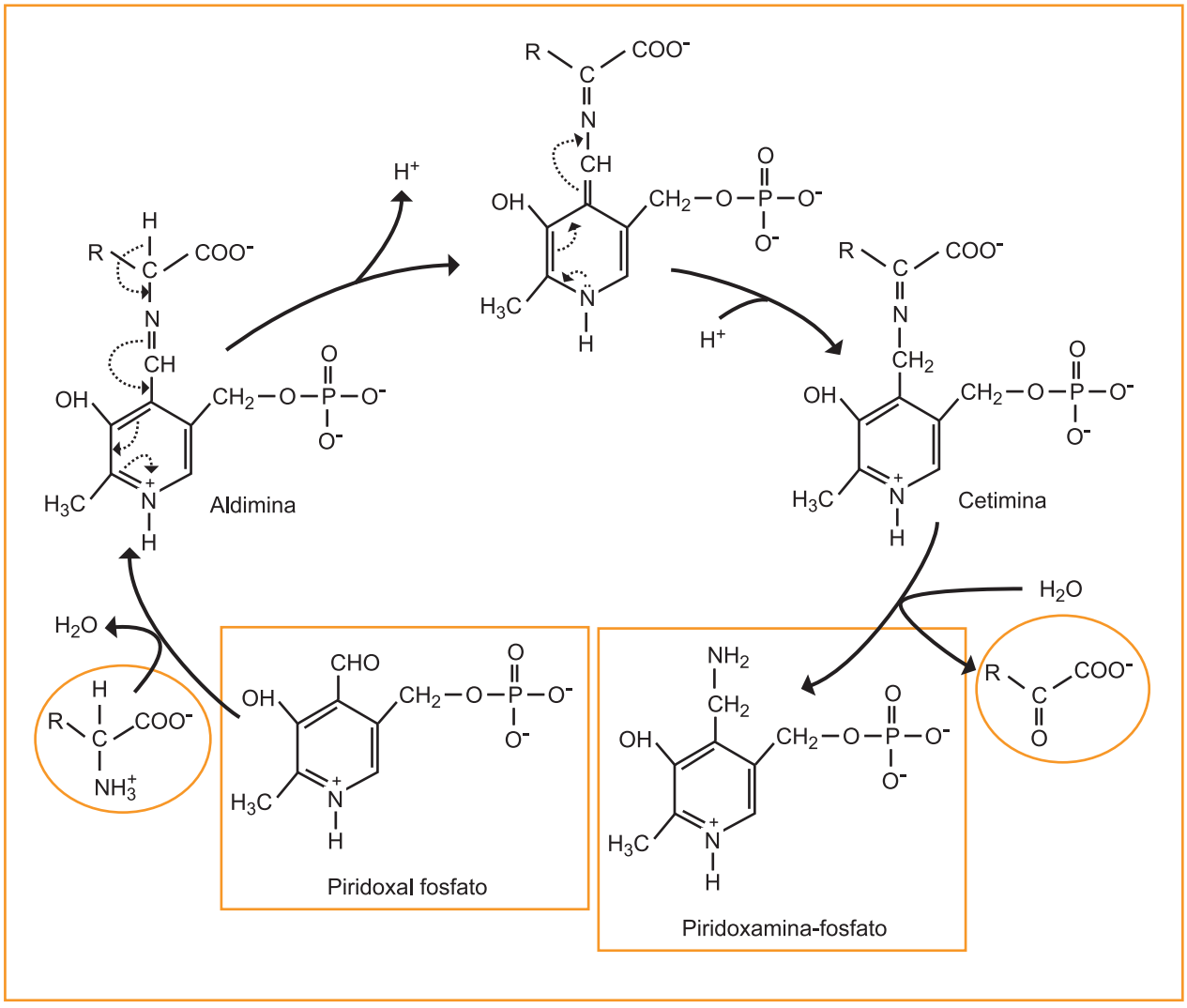


Figura 23. *Funciones coenzimáticas del piridoxal-fosfato y de la piridoxamina-fosfato en la transaminación.*

en el hígado, leguminosas, frutos secos y plátanos. En los vegetales predominan la piridoxina y la piridoxamina, mientras que en los animales predomina el piridoxal.

Los procesos térmicos pueden afectar la disponibilidad de la vitamina, ya que favorecen la formación de complejos entre las formas coenzimáticas del piridoxal y las proteínas, con pérdida de la actividad vitamínica.

Las recomendaciones dependen de muchos factores, sobre todo de la ingesta proteica y el uso de determinados medicamentos (*ver más adelante*). En cualquier caso, las organizaciones internacionales aconsejan entre 1,3 y 1,7 mg diarios para el hombre y entre 1,3 y 1,5 para la mujer (1,9 durante el embarazo, y 2,0 durante la lactancia) **(Tabla 5)**.

6.5. Deficiencia y estados carenciales

Las carencias de aporte son muy raras en los países industrializados, dada la abundancia de la piridoxina en los alimentos. Existe, además, una cierta cantidad almacenada de vitamina, y tampoco es desdeñable la contribución de la microbiota intestinal. Las deficiencias suelen producirse cuando coinciden en un mismo individuo algunas de las circunstancias siguientes:

Tabla 5. INGESTAS DIETÉTICAS RECOMENDADAS (RDA) O INGESTAS ADECUADAS (IA) Y MÁXIMO NIVEL DE INGESTA SIN RIESGO PARA LA PIRIDOXINA

Grupo/edad	RDA/IA* (mg/día)	Máximo nivel de ingesta sin riesgo (mg/día)
0-6 meses	0,1*	No determinado
7-12 meses	0,3*	No determinado
1-3 años	0,5	30
4-8 años	0,6	40
Varones		
9-13 años	1,0	60
14-18 años	1,3	80
19-50 años	1,3	100
50 años en adelante	1,7	100
Mujeres		
9-13 años	1,0	60
14-18 años	1,2	80
19-50 años	1,3	100
50 años en adelante	1,5	100
Embarazo		
Hasta 18 años	1,9	80
19-50 años	1,9	100
Lactancia		
Hasta 18 años	2	80
19-50 años	2	100

Fuente: Dietary Reference Intakes. Food and Nutrition Board. National Academy of Sciences, 1998.

a) Alimentación a base de cereales. La vitamina B_6 abunda en los cereales, pero se encuentra como glucósido, que no es absorbible y se pierde en gran parte durante la molienda y demás procesos industriales.

b) Alcohólicos crónicos. Además del aporte escaso y los problemas de absorción que afectan en general a la mayoría de las vitaminas, los alcohólicos crónicos presentan alteraciones del metabolismo de la piridoxina. Hay disminución de la fosforilación y aceleración de la desfosforilación, así como un aumento de la excreción renal.

c) Tratamiento con isoniazida en un "acetilador lento". Estos individuos metabolizan muy poco la isoniazida. Este fármaco, así como la carbidopa o la benzerazida, se unen al PLP formando complejos inactivos.

d) Tratamiento con penicilamina. Este fármaco favorece la eliminación urinaria de la piridoxina.

e) Tratamiento con anticonceptivos orales a dosis elevadas. Parece que estos fármacos inducen la triptófano oxigenasa, por lo que aumenta el flujo de degradación del triptófano por la vía de la cinureninasa, con gasto excesivo de su coenzima, el PLP.

f) Hemodiálisis crónica. Estos pacientes tienen mayores requerimientos de piridoxina, aunque no se conocen bien las causas. Es posible que las toxinas circulantes inhiban la fosforilación del piridoxal.

La deficiencia en piridoxina produce retraso del crecimiento, anemia hipocrómica, dermatitis seborreica, glositis, depresión y convulsiones. La anemia puede explicarse porque el PLP es el coenzima de la δ-aminolevulínico sintetasa, primera enzima en la síntesis del anillo porfirínico, como ya se ha comentado. Las convulsiones pueden tener origen en un desequilibrio de aminas neurotransmisoras.

Hay que recordar que algunas deficiencias en piridoxina suelen conducir secundariamente a carencias en niacina, al no funcionar adecuadamente su síntesis endógena a partir de triptófano.

La falta de piridoxina origina la eliminación creciente de catabolitos de aminoácidos. La de-

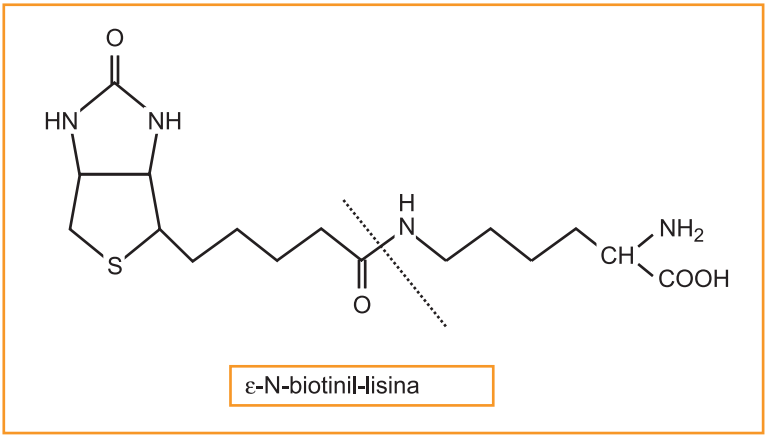


Figura 24. *Estructura de la biocitina (biotinil-lisina).*

terminación de estos metabolitos puede utilizarse para confirmar la deficiencia en piridoxina tras la correspondiente sobrecarga. También se puede acudir a la determinación directa del PLP en plasma o a la medida de la glutamato oxalacetato aminotransferasa eritrocitaria en presencia o ausencia de PLP exógeno.

6.6. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

La piridoxina es una de las vitaminas con mayor empleo terapéutico, dadas sus implicaciones metabólicas, especialmente en la síntesis de aminas biógenas. Además de las indicaciones específicas, se pueden reseñar las siguientes:

a) Síndromes depresivos en general y síndrome premenstrual.

b) Corea de Huntington y crisis convulsivas del recién nacido.

c) Anemias sideroblásticas refractarias a otros tratamientos (por su implicación en la síntesis del grupo hemo).

d) Errores congénitos del metabolismo relacionados con enzimas piridoxín-dependientes.

e) Polineuritis.

f) Etilismo agudo.

La utilización excesiva de piridoxina (dosis entre 2 y 4 g diarios) puede producir efectos tóxicos, concretamente neuropatía periférica.

En la **Tabla 5** se indican las dosis diarias máximas para las que no hay descritos efectos secundarios.

7. Biotina

Entre todas las vitaminas del subgrupo con funciones coenzimáticas generales en el metabolismo, la biotina es la única que se comporta como coenzima sin necesidad de modificaciones estructurales. Unida por enlaces covalentes a las proteínas enzimáticas, interviene siempre en reacciones de carboxilación que afectan al funcionamiento del ciclo de Krebs, la lipogénesis y la degradación de algunos aminoácidos.

Las deficiencias nutricionales en biotina son muy raras, porque ésta se encuentra en la mayoría de los alimentos y es suplementada por la microbiota intestinal.

7.1. Estructura y propiedades

La biotina (vitamina B_8, vitamina H) es una molécula compuesta por un ciclo imidazolínico y un ciclo tetrahidrotiofeno con una cadena lateral de ácido valérico. La biotina se encuentra unida de modo covalente a las proteínas enzimáticas con las que colabora, mediante la formación de un enlace amídico entre el carboxilo de la cadena lateral y un grupo ε-amino de un residuo de lisina. La N-biotinil lisina se denomina biocitina **(Figura 24)**.

Es una molécula soluble en agua y soluciones alcalinas. Es estable en solución acuosa y resistente al calor, pero muy sensible a las radiaciones UV.

7.2. Absorción y metabolismo

La biotina se encuentra generalmente unida a proteínas en los alimentos. Una vez hidrolizadas estas proteínas, los restos oligopeptídicos que contienen biotina son hidrolizados por medio de una enzima pancreática específica, la biotidinasa, que ataca el enlace amídico de la biocitina. La biotina libre es absorbida por un proceso de transporte activo a nivel de yeyuno e íleon proximal. Los tejidos más ricos en biotina son el hígado, el riñón y el sistema nervioso central.

La biotina circula en el plasma de forma libre y ligada a las proteínas. Se excreta fundamentalmente inalterada por vía urinaria.

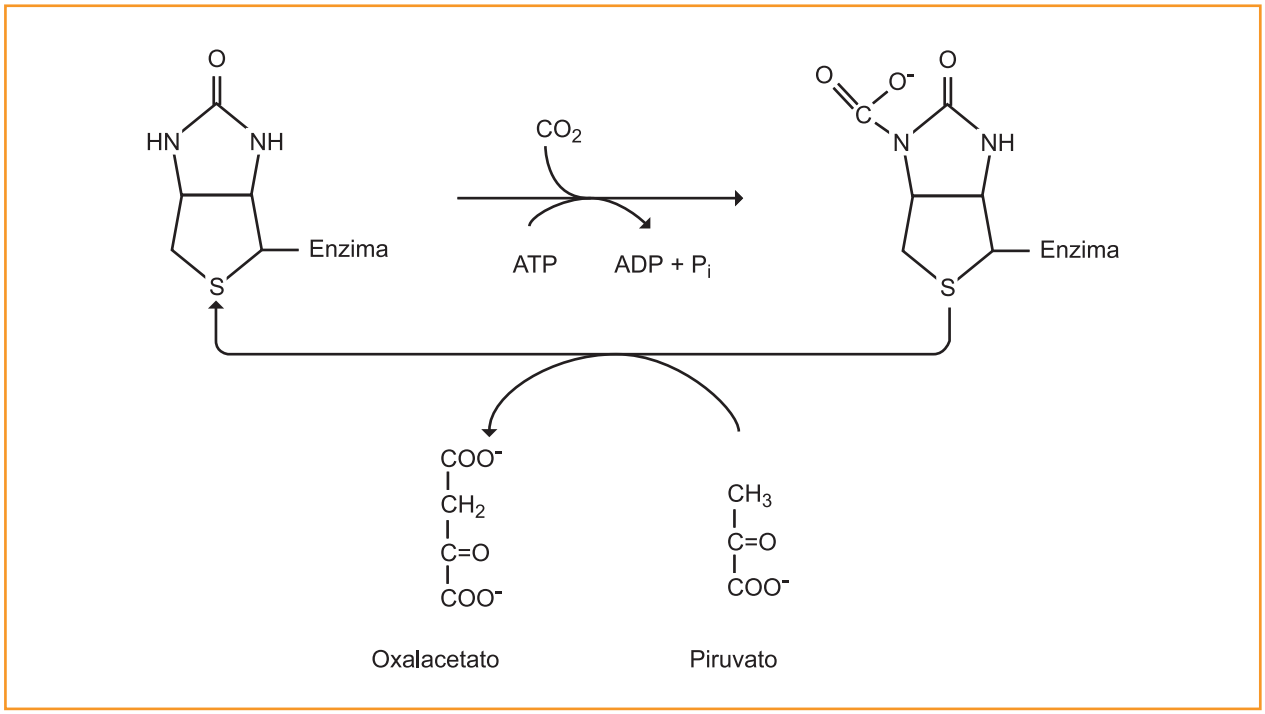


Figura 25. *Mecanismo de acción de la biotina en la carboxilación del piruvato. ATP: adenosín-trifosfato; ADP: adenosín-difosfato.*

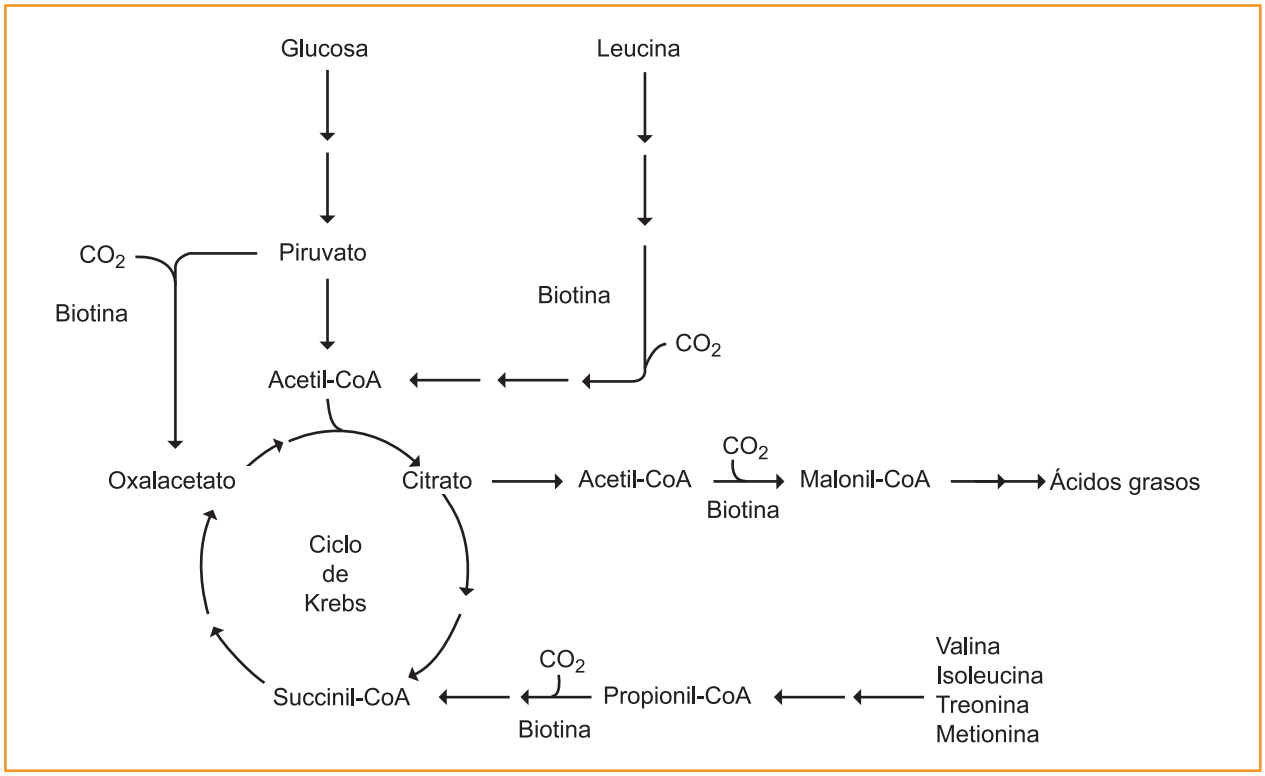


Figura 26. *Principales vías metabólicas en las que interviene la biotina.*

7.3. Funciones metabólicas

La biotina es un coenzima de carboxilasas. En todos los casos, la carboxilación se lleva a cabo a través de la unión del dióxido de carbono a uno de los nitrógenos del anillo imidazolínico, en una reacción que requiere el concurso del ATP. Posteriormente, el carboxilo se transfiere al sustrato correspondiente, como se detalla en la **Figura 25** para la enzima piruvato carboxilasa. Existen cuatro carboxilasas fundamentales:

a) Piruvato carboxilasa. Cataliza la formación de oxalacetato a partir de piruvato **(Figura 25)**, favoreciendo el funcionamiento del ciclo de Krebs. También es una enzima clave en la gluconeogénesis a partir de lactato o alanina (*ver Capítulo 1.9*).

b) Acetil-CoA carboxilasa. Cataliza la formación de malonil-CoA a partir de acetil-CoA. Esta reacción constituye un paso crucial en la biosíntesis de los ácidos grasos (*ver Capítulo 1.12*).

c) Propionil-CoA carboxilasa. Cataliza la formación de metil-malonil-CoA a partir de propionil-CoA. Este último metabolito se origina en la degradación de diversos aminoácidos. La conversión posterior del metil-malonil-CoA en succinil-CoA, en reacción en la que interviene como coenzima un derivado de la vitamina B_{12}, permite la utilización energética de estos aminoácidos (metionina, treonina, valina e isoleucina) (*ver Capítulo 1.14*).

d) β-metil-crotonil-CoA carboxilasa. Esta enzima interviene en la degradación de la leucina hasta acetil-CoA (*ver Capítulo 1.14*).

En la **Figura 26** se indican los puntos del metabolismo en los que interviene la biotina.

7.4. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales

La biotina se encuentra abundantemente en casi todos los alimentos y es sintetizada en parte por la microbiota intestinal, por lo que los requerimientos (15-100 μg/día) se cumplen fácilmente con una dieta equilibrada.

Los alimentos más ricos en biotina son el hígado y la yema de huevo.

En la **Tabla 6** se indican las ingestas dietéticas recomendadas y/o las ingestas adecuadas de biotina de acuerdo con la edad, el género y las circunstancias biológicas.

Tabla 6. INGESTAS ADECUADAS (IA) PARA LA BIOTINA

Grupo/edad	IA (mg/día)
0-6 meses	5
7-12 meses	6
1-3 años	8
4-8 años	12
Varones	
9-13 años	20
14-18 años	25
19-más de 70 años	30
Mujeres	
9-13 años	20
14-18 años	25
19-más de 70 años	30
Embarazo	30
Lactancia	35

Fuente: Dietary Reference Intakes. Food and Nutrition Board. National Academy of Sciences, 1998.

7.5. Deficiencia y estados carenciales

Las deficiencias en biotina son muy raras, dada la existencia de biotina en la mayoría de los alimentos y el aporte suplementario de la microbiota intestinal. Se pueden producir cuando se ingieren abundantes huevos crudos, porque la clara de huevo contiene una glicoproteína (avidina) que se une fuerte y específicamente con la biotina, impidiendo su absorción intestinal. La avidina se desnaturaliza por el calor, por lo que la mayoría de los tratamientos culinarios le hacen perder sus propiedades antivitamínicas.

Las consecuencias clínicas de la deficiencia son fundamentalmente acidosis metabólica, alteraciones digestivas, hipotonía y alopecia.

La confirmación de la deficiencia se hace sobre todo investigando la existencia de acidosis me-

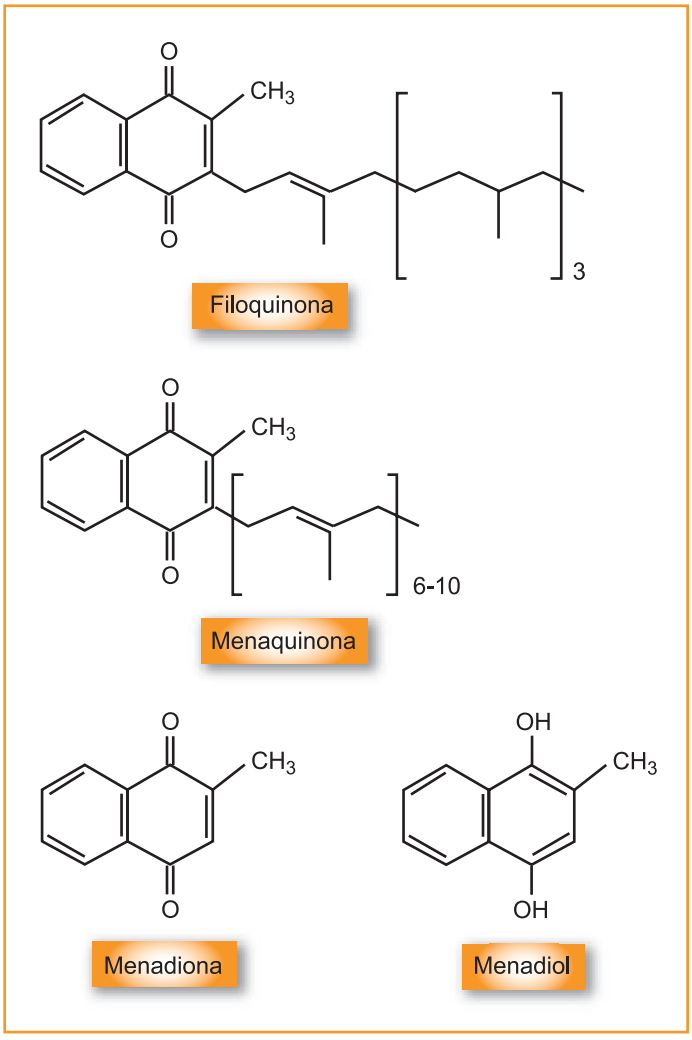


Figura 27. *Compuestos químicos con actividad vitamínica K.*

tabólica con cetosis, originada por el mal funcionamiento de las carboxilasas. También se pueden medir los sustratos orgánicos de las carboxilasas afectadas.

7.6. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

Tiene una indicación específica en el déficit múltiple de carboxilasas producido por su deficiencia. Como en estas condiciones resulta eficaz contra la alopecia concomitante, se suele utilizar como antialopécica en general. También se utiliza en los errores congénitos de las enzimas biotín-dependientes (*ver Capítulo 4.14*).

No se conocen fenómenos de toxicidad por sobredosificación.

8. Vitamina K

La vitamina K desempeña un papel fundamental en la coagulación sanguínea por su papel coenzimático en la carboxilación de restos de glutamato de proteínas implicadas en dicho proceso. Este mecanismo produce la activación de dichas proteínas (factores de la coagulación), porque favorece la unión a iones calcio. Además, la carboxilación de restos de glutamato también interviene en la activación de otras proteínas no coagulatorias. La deficiencia de vitamina K puede ser especialmente importante en recién nacidos.

8.1. Estructura y propiedades

Con la denominación de vitaminas K se designa un conjunto de sustancias de carácter vitamínico derivadas de la 2-metil-naftoquinona **(Figura 27)** que intervienen fundamentalmente en el proceso de la coagulación sanguínea. Las formas naturales son la filoquinona o fitomenadiona (vitamina K_1), de origen vegetal, con una cadena isoprenoide lateral que proviene del fitilo; y la menaquinona (vitamina K_2), de origen microbiano, con una cadena lateral de tipo isoprenoide de longitud variable (entre 5 y 15 unidades de isopreno, aunque son más frecuentes las formas con 6-10 unidades).

La menadiona y el menadiol (vitaminas K_3) son de origen sintético y carecen de cadena lateral. El menadiol es la forma hidroquinona de la menadiona. La filoquinona, la menaquinona y la menadiona son liposolubles. En cambio, algunas sales de la menadiona y del menadiol son hidrosolubles y permiten la administración parenteral. Son estables al calor pero se degradan por efecto de la luz.

8.2. Absorción y metabolismo

Las vitaminas K liposolubles se absorben con la ayuda de las sales biliares. Las que proceden de

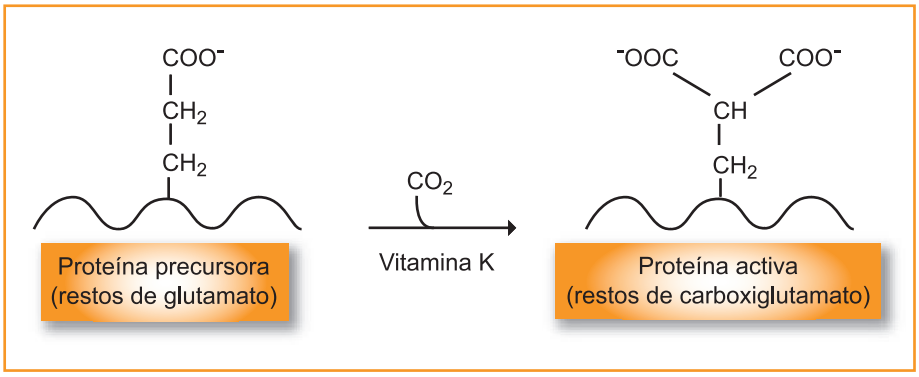


Figura 28. *Reacción de carboxilación dependiente de vitamina K.*

la dieta lo hacen preferentemente en la parte alta del intestino por un proceso de transporte activo, mientras que la menaquinona sintetizada por la microbiota intestinal se absorbe a nivel de íleon y colon por simple difusión. Una vez en los enterocitos, estas formas se incorporan a los quilomicrones y alcanzan el hígado con las partículas remanentes. Los derivados hidrosolubles llegan al hígado por la circulación portal.

Las vitaminas K son transportadas a los tejidos por las lipoproteínas (VLDL y LDL). A pesar de tratarse de una vitamina liposoluble, su almacenamiento corporal es escaso, siendo algo mayor en el hígado.

Existe una cierta metabolización degradativa de las vitaminas K, que incluye el acortamiento de la cadena lateral isoprenoide y la glucuronoconjugación. La eliminación se realiza fundamentalmente por vía biliar pero también aparecen metabolitos en la orina.

8.3. Funciones metabólicas

Las vitaminas K intervienen en la coagulación sanguínea mediante la carboxilación de residuos de glutamato en algunas de las proteínas implicadas en el proceso. Estas proteínas son la protrombina, el factor VII, el factor IX, el factor X, y las proteínas C, S y Z. Todas ellas tienen regiones peptídicas análogas entre las posiciones 1 y 40 y requieren para su actividad biológica la carboxilación de entre 10 y 12 residuos de glutamato.

La carboxilación se realiza sobre el carbono en posición γ, que es la misma que soporta el grupo carboxilo inicial. Se forman, así, dos restos contiguos cargados negativamente **(Figura 28)** que son esenciales para conectar estas proteínas con los fosfolípidos de las membranas plaquetarias o tisulares por medio de los iones de calcio y mediante cambios conformacionales.

La enzima que cataliza esta reacción se denomina γ-glutamil carboxilasa o carboxilasa dependiente de vitamina K, y se localiza en el retículo endoplásmico. Su mecanismo de acción es complejo y no demasiado bien conocido. Se necesita oxígeno molecular y dióxido de carbono o bicarbonato. Utiliza como sustratos la vitamina K (cualquiera de sus formas) previamente reducida (como hidroquinona) y la fracción peptídica que incluye los residuos de glutamato. La reacción no necesita ATP. Es probable que la oxidación de la vitamina K suministre la energía para la carboxilación. La regeneración del sustrato (forma reducida de la vitamina K) necesita la actuación de dos enzimas: la epóxido reductasa y la quinona reductasa. Estas enzimas utilizan como donadores de hidrógeno restos tiólicos (epóxido reductasa) y NADPH (quinona reductasa) **(Figura 29)**.

El reciclaje de la vitamina K durante su actuación explica que no se necesite almacenarla en gran cantidad. Es interesante añadir, además, que son estas etapas de recuperación las que se inhiben específicamente por los antagonistas de las vitaminas K utilizados como anticoagulantes.

Las carboxilaciones dependientes de vitamina K no son exclusivas del hígado ni afectan únicamente a la coagulación. Las carboxilasas de restos γ-glutamilos se encuentran en otros tejidos, especialmente en tejido óseo, placenta, páncreas, pulmones, bazo y riñón. Todas las proteínas carboxiladas de esta forma ("proteínas Gla") están involucradas en el metabolismo del calcio. La mejor conocida de estas proteínas es la osteocalcina del tejido óseo, que desempeña un papel importante en la mineralización de este tejido. Otra proteína con funciones semejantes es la denominada "proteína Gla de la matriz", que se encuentra en los tejidos óseo y conectivo. Las demás proteínas relacionadas encontradas en otros tejidos (aterocalcina,

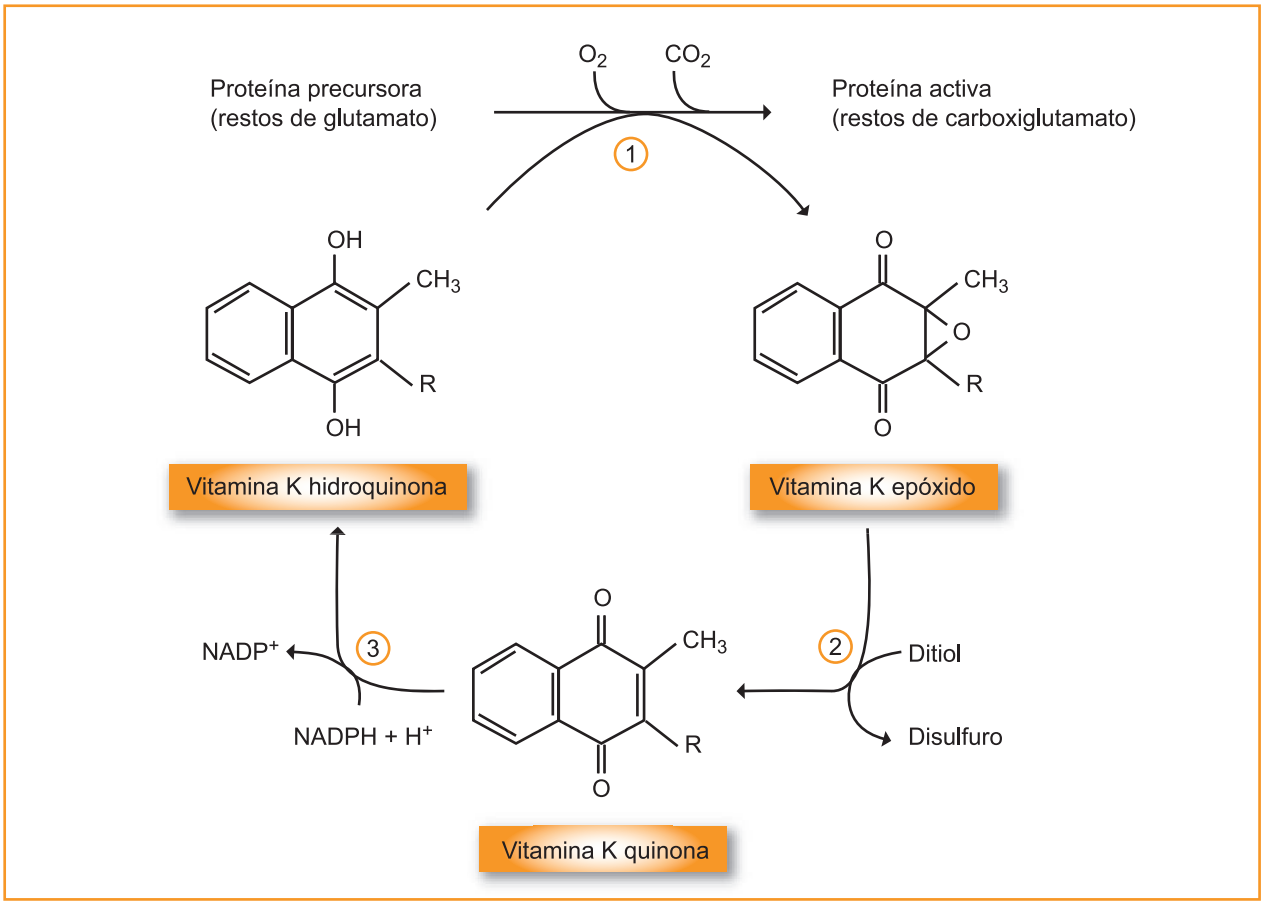


Figura 29. *Enzimas implicadas en la carboxilación dependiente de vitamina K. 1: carboxilasa dependiente de vitamina K; 2: epóxido reductasa; 3: quinona reductasa.*

nefrocalcina, etc.) están peor caracterizadas y no se conocen bien sus funciones fisiológicas. Algunas de ellas parecen estar relacionadas incluso con la señalización celular.

8.4. Fuentes alimentarias y requerimientos nutricionales

La filoquinona es especialmente abundante en verduras y leguminosas. Los tejidos animales contienen una mezcla de filoquinona y menaquinona pero sólo el hígado almacena cantidades relativamente importantes.

Es discutible la cantidad aprovechable de la menaquinona producida por la microbiota intestinal, aunque es un hecho que el tratamiento prolongado con antibióticos puede originar deficiencia en vitamina K.

Las necesidades diarias de vitamina K en los adultos se pueden estimar en 1.200 μg para el hombre y 90 μg para la mujer **(Tabla 7)**.

8.5. Deficiencia y estados carenciales

Las deficiencias en vitamina K son poco frecuentes debido a su abundancia en la alimentación y al aporte de la microbiota intestinal.

Las causas de hipovitaminosis pueden agruparse así:

a) Aporte alimentario escaso. Sólo ocurre en circunstancias de nutrición parenteral total de larga duración sin suplementación vitamínica.

b) Problemas de absorción. Se pueden producir en casos de resecciones intestinales, obstrucción biliar, etc.

Tabla 7. INGESTAS ADECUADAS (IA) PARA LA VITAMINA K

Grupo/edad	IA (μg/día)
0-6 meses	2,0
7-12 meses	2,5
1-3 años	30
4-8 años	55
9-13 años	60
14-18 años	75
19 años en adelante	120 (varones) 75 (mujeres)
Embarazo	
14-18 años	75
19-50 años	90
Lactancia	
14-18 años	75
19-50 años	90

Fuente: Dietary Reference Intakes. Food and Nutrition Board. National Academy of Sciences, 1998.

c) Medicamentos. Los más característicos son los antagonistas de la vitamina K utilizados en la terapia anticoagulante. Otros medicamentos que pueden interferir son la colestiramina (dificulta su absorción), el tratamiento con antibióticos que destruyan la microbiota intestinal, los laxantes y la sobredosificación con vitaminas A o E. El retinol parece que actúa inhibiendo la absorción de la vitamina K. El mecanismo por el que el tocoferol antagoniza a la vitamina K es desconocido.

Los recién nacidos tienen mayor riesgo para esta deficiencia. Sus reservas corporales son muy limitadas y carecen prácticamente de microbiota intestinal.

Las insuficiencias leves no producen signos clínicos, mientras que las carencias importantes producen un síndrome hemorrágico.

La confirmación del diagnóstico se realiza midiendo el tiempo de protrombina. Cuando concurre una enfermedad hepática grave, la alteración de este parámetro puede deberse a la falta de síntesis del precursor de la protrombina llamado preprotrombina (protrombina no carboxilada). En estos casos, la inyección de vitamina K no modifica el resultado de la prueba, mientras que la normaliza en los casos de deficiencia pura.

Un medio más sensible para detectar deficiencias marginales de vitamina K es la medida de las concentraciones plasmáticas de preprotrombina. Otra forma muy sensible es la medida de osteocalcina no carboxilada.

8.6. Indicaciones terapéuticas e hipervitaminosis

En los casos de deficiencia que se acaban de describir se suele utilizar la filoquinona por vía oral o parenteral. La posología depende de la edad, de la vía de administración y de las circunstancias patológicas, no siendo superior a los 100 mg diarios.

A pesar de ser una vitamina liposoluble, no hay descritos casos de toxicidad por sobredosificación para las formas naturales. La menadiona, en cambio, parece más peligrosa, especialmente en los recién nacidos, en los que puede producir anemia hemolítica e hiperbilirrubinemia. Es posible que la menadiona pueda reaccionar con grupos tiólicos de proteínas y competir con la glucuronoconjugación de la bilirrubina.

9. Resumen

- Tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantoténico, piridoxina y biotina constituyen un grupo de vitaminas que se caracterizan fundamentalmente por que actúan como coenzimas en el metabolismo intermediario. Todos ellas son hidrosolubles, están ampliamente distribuidas en los alimentos, no se almacenan de forma especial en el organismo y no suelen producir toxicidad por sobredosificación. Las deficiencias en estas vitaminas se producen generalmente de forma global en los países industrializados por la existencia de desnutrición, malabsorción, consumo elevado de alcohol o de medicamentos, y pueden ser especialmente relevantes en la población anciana.

- La tiamina desempeña un papel fundamental en el metabolismo de los hidratos de carbono a través de la formación de su derivado coenzimático denominado tiamina-pirofosfato (TPP). Dada la importancia del metabolismo de la glucosa para el sistema nervioso, es fácil comprender que la deficiencia de tiamina produzca sobre todo alteraciones neurológicas.

- La riboflavina tiene dos formas coenzimáticas: FMN (flavín-mononucleótido) y FAD (flavín-adenín-dinucleótido). Se trata de coenzimas de óxido-reducción que colaboran con numerosas enzimas del metabolismo intermediario. La deficiencia aislada de riboflavina es rara, dada su abundancia en los alimentos.

- Con el nombre de niacina se designa el conjunto de dos especies químicas, ácido nicotínico y nicotinamida. Las formas coenzimáticas de la nicotinamida son el NAD (nicotín-adenín-dinucleótido) y el NADP (nicotín-adenín-dinucleótido-fosfato). Ambas intervienen en numerosas reacciones de óxido-reducción. Un aspecto peculiar de esta vitamina es que puede sintetizarse en el organismo a partir de triptófano, aunque en cantidades muy pequeñas. Por otra parte, el ácido nicotínico tiene un efecto hipolipemiante muy significativo cuando se utiliza a dosis muy altas.

- El ácido pantoténico tiene dos derivados coenzimáticos de gran importancia biológica. La ACP (proteína transportadora de acilos) forma parte del complejo enzimático utilizado para la síntesis de ácidos grasos. El coenzima A se necesita para activar metabólicamente a todos los restos acilo, incluyendo tanto los ácidos grasos como diversos metabolitos originados en la degradación de la glucosa y de algunos aminoácidos. Dada su abundancia en los alimentos, las deficiencias aisladas de ácido pantoténico son muy raras.

- La piridoxina es uno de los tres derivados piridínicos interconvertibles que constituyen la vitamina B_6. El principal derivado de esta vitamina es el piridoxal-fosfato. Este coenzima interviene, sobre todo, en el metabolismo de los aminoácidos. Las deficiencias alisladas de piridoxina no son frecuentes y originan especialmente problemas neurológicos. Por otra parte, la piridoxina es una de las vitaminas de este grupo con mayor empleo terapéutico.

- Entre todas las vitaminas del subgrupo con funciones coenzimáticas generales en el metabolismo, la biotina es la única que se comporta como coenzima sin necesidad de modificaciones estructurales. Unida por enlace covalente a las proteínas enzimáticas, interviene siempre en reacciones de carboxilación que afectan el funcionamiento del ciclo de Krebs, la lipogénesis y la degradación de algunos aminoácidos. Las deficiencias aisladas de biotina son muy raras porque esta vitamina se encuentra ampliamente distribuida en los alimentos.

- La vitamina K pertenece al grupo de vitaminas liposolubles, pero actúa como coenzima en reacciones de carboxilación. En este caso, se trata de reacciones de carboxilación sobre restos de glutamato de proteínas implicadas fundamentalmente en la coagulación y en el metabolismo óseo. Las deficiencias de esta vitamina son raras en el adulto pero pueden ser muy graves en los recién nacidos.

10. Bibliografía

Basu TK, Dickerson JW. Vitamins in Human Health and Disease. Cab International. Oxon, UK, 1996.
En este libro se estudian los aspectos metabólicos más importantes de las vitaminas de manera muy ordenada y con una gran claridad.

Bender DA. Nutritional Biochemistry of the Vitamins, 2nd ed. Cambridge University Press. Cambridge, UK, 2003.
Se realiza un estudio muy completo y actualizado de los aspectos metabólicos y nutricionales de las vitaminas.

Brody T. Nutritional Biochemistry, 2nd ed. Academic Press. San Diego, California, USA, 1999.
Dedicado al estudio de los nutrientes en general, también son destacables los aspectos de claridad y actualidad en el tema concreto de las vitaminas.

Combs GF, Jr. The Vitamins. Fundamental Aspects in Nutrition and Health, 2nd ed. Academic Press. San Diego, California, USA, 1998.
Este libro contiene mucha información, está muy bien ordenado y resulta muy didáctico. Incluye también el estudio de casos concretos de deficiencias vitamínicas.

Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. National Academy of Sciences, 1998.
Contiene información detallada de las ingestas dietéticas recomendadas y de las ingestas adecuadas de las vitaminas para los diferentes grupos y edades.

Garrow JS, James WPT, Ralph A. Human Nutrition and Dietetics, 10th ed. Churchill-Livingstone, 2000.
Se trata de un libro clásico en la nutrición, claro y ordenado. El tema de las vitaminas está tratado con estas características
.

Gibney M, MacDonald I, Roche HM. Nutrition & Metabolism. Blackwell Publishing Company. London, UK, 2003.
Libro muy actualizado que enfoca la nutrición y el metabolismo desde un punto de vista integrado. Está especialmente diseñado para el aprendizaje de la nutrición.

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Illustrated Biochemistry, 26th ed. Lange Medical Books/ McGraw-Hill. New York, USA, 2003.
Este libro es un texto de Bioquímica especialmente útil para todo lo referente a la Bioquímica humana y la Medicina. El capítulo de vitaminas es claro, conciso y actual.

Sanders T, Emery P. Molecular Basis of Human Nutrition. Taylor & Francis. London, UK, 2003.
Se tratan los aspectos bioquímicos básicos de la nutrición, entre ellos, el tema de las vitaminas, de manera ordenada, clara y actualizada.

Shils ME, Olson JA, Shike M. Modern Nutrition in Health and Disease, 8th ed. Lea Febiger, Williams & Wilkins, 1994.
Es un tratado clásico muy completo de la nutrición que incluye los aspectos bioquímicos básicos incluyendo el tema de las vitaminas.

Stipanuk MH. Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition. W.B. Saunders Company. Philadelphia, New York, USA, 2000.
Tratado multiautor que estudia con detalle la estructura y propiedades de los nutrientes, su digestión, absorción y metabolismo y los aspectos concretos entre dieta y enfermedad.

11. Enlaces web

- www.indstate.edu/thcme/mwking/vitamins.html
- www.nal.usda.gov/fnic/etext/000068.html
- www.lpi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins.html
- www.wvda.org/nutrient
- www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/002399.htm
- www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/default.html
- www.roche-vitamins.com
- www.med.unibs.it/~marchesi/vitamins.html

1.22. Ácido fólico y vitamina B_{12}

Gregorio Varela Moreiras

Capítulo 1.22.

Ácido fólico y vitamina B_{12}

1. Introducción

2. Ácido fólico

2.1. Estructura química

2.2. Propiedades físico-químicas

2.3. Digestión, absorción, transporte y metabolismo

- 2.3.1. Digestión
- 2.3.2. Absorción
- 2.3.3. Distribución
- 2.3.4. Metabolismo
- 2.3.5. Eliminación

2.4. Funciones bioquímicas y actividad biológica

2.5. Folatos y salud

- 2.5.1. La carencia clásica: anemia megaloblástica
- 2.5.2. Las nuevas funciones

2.6. Ingestas recomendadas y toxicidad

- 2.6.1. Ingestas recomendadas
- 2.6.2. Toxicidad

2.7. Fuentes alimentarias

- 2.7.1. Formas
- 2.7.2. Alimentos
- 2.7.3. Procesos culinarios
- 2.7.4. Biodisponibilidad

2.8. Valoración del estado nutricional

- 2.8.1. Métodos de evaluación
- 2.8.2. Diagnóstico de la carencia

3. Vitamina B_{12}

3.1. Estructura química, propiedades físico-químicas y fuentes

- 3.1.1. Estructura química
- 3.1.2. Propiedades físico-químicas
- 3.1.3. Fuentes alimentarias

3.2. Digestión, absorción, metabolismo y mecanismo de acción

- 3.2.1. Digestión
- 3.2.2. Absorción

3.2.3. Metabolismo
3.2.4. Acciones
3.3. Valoración del estado nutricional
3.4. Deficiencia, ingestas recomendadas y toxicidad
3.4.1. Deficiencia
3.4.2. Causas de deficiencia
3.4.3. Ingestas recomendadas y toxicidad

4. Resumen

5. Bibliografía

6. Enlaces web

Objetivos

- Identificar la estructura química y las propiedades físicas de ambas vitaminas.
- Conocer los puntos críticos en la digestión, absorción y metabolismo de ambas vitaminas.
- Reconocer las funciones y mecanismos de acción, con especial relevancia de los compartidos por ambos nutrientes.
- Identificar y evaluar la importancia de estas vitaminas en relación con la salud: desde la anemia a la prevención de los defectos del tubo neural o enfermedades cardiovasculares.
- Conocer las principales fuentes alimentarias y las ingestas adecuadas en diferentes situaciones fisiológicas.
- Evaluar el riesgo de toxicidad agudo y crónico.
- Conocer los biomarcadores más adecuados para la valoración del estado nutricional.
- Identificar las principales causas de deficiencia de ácido fólico y vitamina B_{12}.

1. Introducción

El término ácido fólico se aplica en realidad a toda una familia de vitámeros con actividad biológica equivalente. Dentro de la nomenclatura, se suelen emplear indistintamente otros términos como folato, folatos, y folacina. En algunos casos también se utiliza el término vitamina B_9.

El ácido fólico fue aislado en 1943 por el grupo de E.L. Robert Stokstad (Laboratorios Lederle), a lo que siguió la identificación y síntesis del ácido pteroilmonoglutámico en 1945. Quince años antes, Lucy Wills había descrito un "nuevo factor hematopoyético" en la levadura, que tenía capacidad para curar la anemia macrocítica tropical en la India: a este nuevo y desconocido factor se le denominó "Factor Wills", encontrándose en el extracto de hígado, utilizado para la curación de la anemia perniciosa. Tras diferentes intentos de identificar este factor, al que se asignaban diversos nombres (vitamina M, vitamina B_c), fueron Mitchell *et al.*, en 1941, quienes propusieron el término "ácido fólico" para un factor de crecimiento presente en las hojas de las espinacas.

Las interacciones metabólicas del ácido fólico con la vitamina B_{12}, y su común asociación con la anemia megaloblástica, han constituido una parte muy importante de la historia de ambas vitaminas. De forma retrospectiva, se puede reconocer que la vitamina B_c era lo que hoy se denomina ácido fólico, y que quedaba en el aire un "factor extrínseco" que posteriormente se denominaría vitamina B_{12}.

La primera mitad del siglo pasado se ocupó de la identificación y síntesis de las formas de la vitamina para el tratamiento de la deficiencia y de la anemia, mientras que la segunda mitad ha estado orientada a la nueva investigación en relación con la absorción y el metabolismo y con sus nuevas funciones frente a cáncer, enfermedades cardiovasculares y defectos connatales.

2. Ácido fólico

2.1. Estructura química

Todos los folatos tienen en común la estructura del ácido pteroilglutámico (PteGlu), molécula constituida por un anillo de pteridina unido por un puente metileno a un residuo de ácido p-aminobenzoico que, a su vez, se une por un enlace amida a un residuo de ácido glutámico **(Figura 1)**. Los distintos folatos se diferencian en el anillo de pteridina, que puede presentar varias formas reducidas y varios tipos de sustituciones, y en el residuo de p-aminobenzoglutamato, que puede presentar unidos por enlaces peptídicos un número variable de residuos de glutamato.

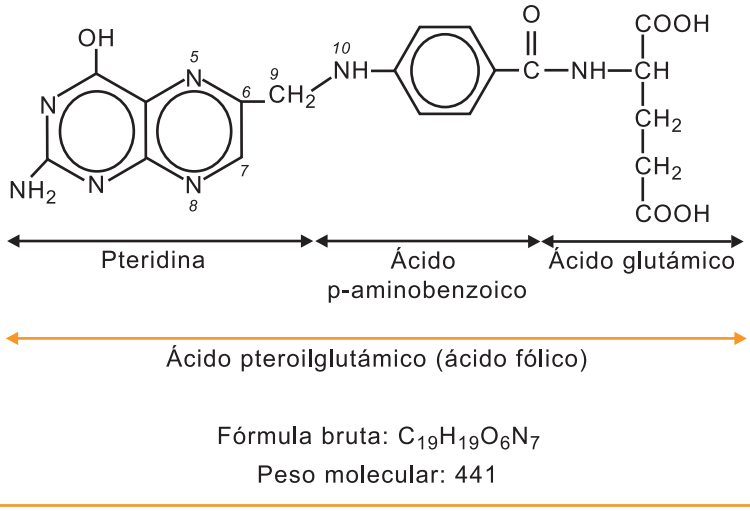


Figura 1. *Estructura química del ácido pteroilglutámico.*

El anillo de pteridina puede encontrarse parcialmente reducido en la posición 7,8 ($H_2PteGlu_n$ o dihidrofolato, DHF) o completamente reducido en las posiciones 5, 6, 7 y 8 ($H_4PteGlu_n$ o tetrahidrofolato, THF). El tetrahidrofolato, a su vez, es capaz de aceptar unidades de un sólo átomo de carbono que se fijan en las posiciones 5, 10 o ambas y pueden encontrarse en diferentes estados de oxidación:

a) En las formas más oxidadas, la sustitución se puede producir en la posición 5 (5-formil-$H_4PteGlu_n$), en la posición 10 (10-formil-$H_4PteGlun$) o en ambas (5,10-metenil-$H_4PteGlu_n$).

b) En las formas intermedias, la sustitución ocupa ambas posiciones (5,10-metilén-$H_4PteGlu_n$).

c) En las formas más reducidas, la sustitución ocupa la posición 5 (5-metil-$H_4PteGlu_n$).

Asimismo, todos los folatos pueden presentar un número variable de residuos de glutamato unidos a la estructura, siendo los más frecuentes en el organismo los mono, penta y hexaglutamatos. Los derivados reducidos de los poliglutamatos son los que constituyen las formas biológicamente activas y las posiciones N5 y N10 son los sitios activos de la molécula de los folatos.

En la **Tabla I** quedan reflejados los diferentes derivados que constituyen la familia de los folatos y las nomenclaturas más frecuentemente utilizadas.

2.2. Propiedades físico-químicas

El ácido fólico se presenta como un polvo cristalino de color amarillo anaranjado. Es poco soluble en agua (0,5 g/l) pero fácilmente soluble en soluciones ácidas o básicas débiles. Es insoluble en alcohol, acetona, éter y cloroformo. El ácido fólico cristalizado es estable al calor y al aire; en solución neutra, por el contrario, es sensible a la luz, a la radiación ultravioleta, a los ácidos, a los álcalis, a los oxidantes y a los reductores. Las formas reducidas (dihidrofolato y tetrahidrofolato) son inestables en presencia de aire.

2.3. Digestión, absorción, transporte, metabolismo y eliminación

2.3.1. Digestión

Los folatos que se ingieren a través de la dieta son mayoritariamente poliglutamatos y reducidos. Ambas formas se modifican, ya que la absorción requiere la pérdida de residuos de glutamato, y por otra parte la inestabilidad a la oxidación del folato conduce a la conversión en formas oxidadas. Debe recordarse también que la transformación en las formas activas obligará a una nueva poliglutamación y reducción.

Los folatos en la alimentación se encuentran en su mayor parte (90%) en forma de poliglutamatos

Tabla 1. LOS FOLATOS (ESQUEMA DE ESTRUCTURAS Y NOMENCLATURAS)

Nombre del compuesto	Característica estructural	Abreviaturas
Ácido pteroil-glutámico Ácido fólico	No reducido Sin sustituciones	PteGlu
Dihidrofolato Ácido dihidrofólico	-H en 5,6	$H_2PteGlu_n$ DHF
Tetrahidrofolato Ácido tetrahidrofólico	-H en 5,6,7,8	$H_4PteGlu_n$ THF
5-formil-tetrahidrofolato* Ácido 5-formil-tetrahidrofólico Ácido folínico	-CHO en 5	5-formil-$H_4PteGlu_n$ 5-formil-THF
10-formil-tetrahidrofolato Ácido 10-formil-tetrahidrofólico	-CHO en 10	10-formil-$H_4PteGlu_n$ 10-formil-THF
5,10-metenil-tetrahidrofolato* Ácido 5,10-metenil-tetrahidrofólico	-CH= en 5,10	5,10-metenil-$H_4PteGlu_n$ 5,10-metenil-THF
5,10-metilén-tetrahidrofolato* Ácido 5,10-metilén-tetrahidrofólico	$-CH_2-$ en 5,10	5,10-metilén-$H_4PteGlu_n$ 5,10-metilén-THF
5-metil-tetrahidrofolato* Ácido 5-metil-tetrahidrofólico	$-CH_3$ en 5	5-metil-$H_4PteGlu_n$ 5-metil-THF
...monoglutamato ...poliglutamato	1 glutamato n glutamatos	...PteGlu ...$PteGlu_n$

** A pesar de la presencia de sustituyentes en el anillo de pteridina y, por tanto, de saturarse el doble enlace 5-6 con un solo hidrógeno, el prefijo indicando reducción (tetrahidro) sigue manteniéndose por convenio.*

ligados a proteínas. En el intestino, son liberados de las proteínas alimentarias por acción de las proteasas digestivas. Posteriormente, los folilpoliglutamatos deben perder sus residuos glutámicos para poder ser absorbidos a nivel intestinal. La pteroil-poliglutamato hidrolasa presente en la membrana del "borde en cepillo" de las células intestinales es la enzima que cataliza la reacción.

2.3.2. Absorción

Los monoglutamatos así formados ingresan en la célula intestinal mediante un mecanismo de transporte activo, aunque a altas dosis el mecanismo de absorción de elección es la difusión pasiva. En el borde en cepillo se ha descrito una proteína de alta afinidad por los folatos, llamada "proteína ligante de folatos" que podría estar involucrada en el transporte activo.

Los folatos que ingresan en la célula intestinal son transferidos al plasma sin sufrir apenas más transformaciones, a excepción de una pequeña parte que es reducida y metilada para dar lugar a 5-metil-THF.

2.3.3. Distribución

El 5-metil-THF difunde por la circulación general a los tejidos, y los demás derivados monoglutámicos son metabolizados principalmente en el hígado. Allí, los monoglutamatos son reducidos y metilados formándose 5-metil-THF, el cual es cedido de nuevo a la circulación con la que llegará a todos los tejidos. Las formas activas van a ser siempre las formas reducidas. Por ello, en el hígado y otros tejidos existe una enzima, la dihidrofolato reductasa, que cataliza la reducción a dihidrofolato (DHF) y tetrahidrofolato (THF). Además, el hígado también almacena folatos en forma de poliglutamatos, principalmente como pentaglutamatos. Estas reservas (en torno a los 5-10 mg) son suficientes para cubrir las necesidades durante aproximadamente 4 meses **(Figura 2)**.

Debido al metabolismo hepático, la forma circulante mayoritaria es el 5-metil-THF. En la circulación, el 5-metil-THF se encuentra unido a proteínas, principalmente a albúmina y a una proteína de alta afinidad por los folatos, la llamada "proteína ligante de folatos". La tasa plasmática de folatos es

de 10 a 30 nmol/l, mientras que en los eritrocitos se encuentra en una concentración de 10 a 30 veces más alta.

Los folatos se distribuyen en el organismo a través de la circulación principalmente hacia tejidos de rápida división celular, como la médula ósea o la mucosa gastrointestinal, ya que estos tejidos necesitan el folato para la síntesis de DNA. En los tejidos de mamíferos se encuentran principalmente como derivados poliglutamatos, encontrándose los pteroilmonoglutamatos únicamente en plasma y orina. La poliglutamilación y la proteína ligante de folatos son las responsables de la retención de los folatos en los tejidos.

El contenido total de folatos en el organismo se encuentra entre 5 y 10 mg, siendo los órganos más ricos en folatos el hígado (2,7-15,6 µg/g) y el cerebro. La tasa de folatos en líquido cefalorraquídeo es de 3 a 4 veces superior a la tasa plasmática.

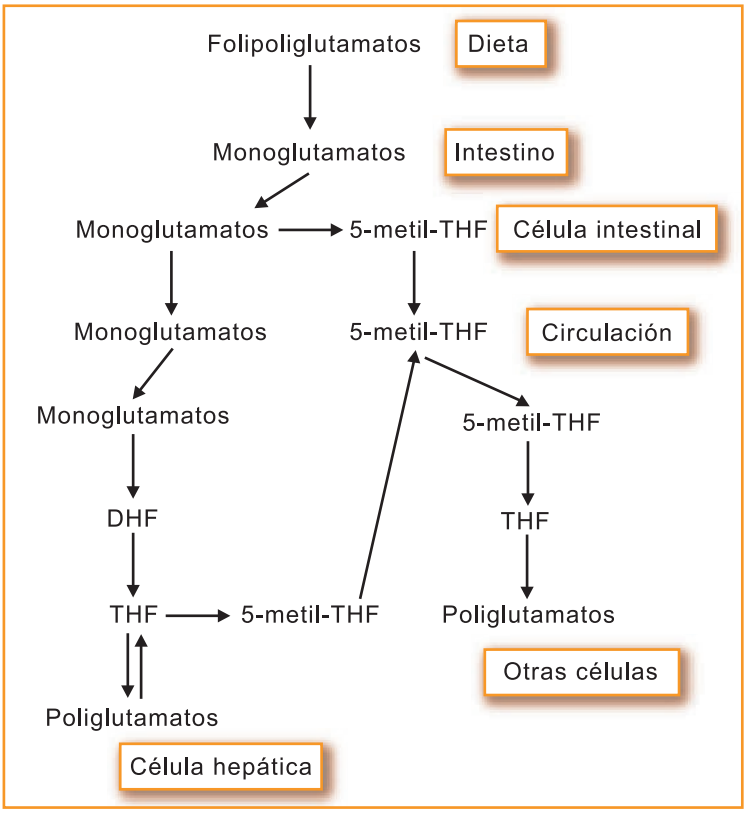


Figura 2. *Absorción y distribución de los folatos en el organismo.*

2.3.4. Metabolismo

En los tejidos periféricos, el 5-metil-THF penetra en el interior de la célula gracias a un sistema de transporte específico. Allí, pierde su grupo metilo al cederlo a la homocisteína en la síntesis de metionina, reacción que es catalizada por la metionina sintasa, enzima que también requiere de la vitamina B_{12} para su actividad. El THF formado es el substrato preferente en las reacciones de poliglutamilación, en las que la folilpoliglutamato sintasa vuelve a añadir los residuos glutámicos, y los folatos quedan retenidos en el interior de la célula, ya que sólo pueden abandonarla si se transforman de nuevo en derivados monoglutámicos. El mecanismo de poliglutamilación implica que la mayoría de los folatos celulares contienen cinco o seis residuos glutamato. Sin embargo, hay situaciones especiales, como la deficiencia dietética, el alcoholismo, o el tratamiento con metotrexato y otros fármacos antifolato, que se han asociado con una mayor elongación de la cadena de restos de ácido glutámico, aunque el mecanismo de este fenómeno no se conoce bien.

Los poliglutamatos son coenzimas de las pteroproteínas, enzimas implicadas en el metabolismo de las unidades monocarbonadas. El metabolismo específico y la función fisiológica de los diferentes derivados se describirá en el siguiente apartado.

2.3.5. Eliminación

Los folatos se eliminan del organismo a través de las vías fecal y urinaria. En las heces aparecen folatos procedentes de la fracción alimentaria no absorbida (aprox. un 20%), de la secreción biliar y de la síntesis por las bacterias intestinales. Parte de los folatos secretados en la bilis son reabsorbidos de nuevo, estableciéndose un ciclo enterohepático. Asimismo, los folatos sintetizados por las bacterias intestinales pueden ser absorbidos, contribuyendo en pequeña proporción al estado y equilibrio corporal de folatos.

A través de la orina se eliminan los folatos metabolizados como pteridinas y ácido benzoilglutámico, compuestos que se forman tras la ruptura

del enlace C9-N10 del ácido fólico. En el riñón se produce también una importante reabsorción tubular de los folatos filtrados. El rango de folatos eliminados por vía urinaria oscila entre 1 y 10 µg/día, en forma de metabolitos.

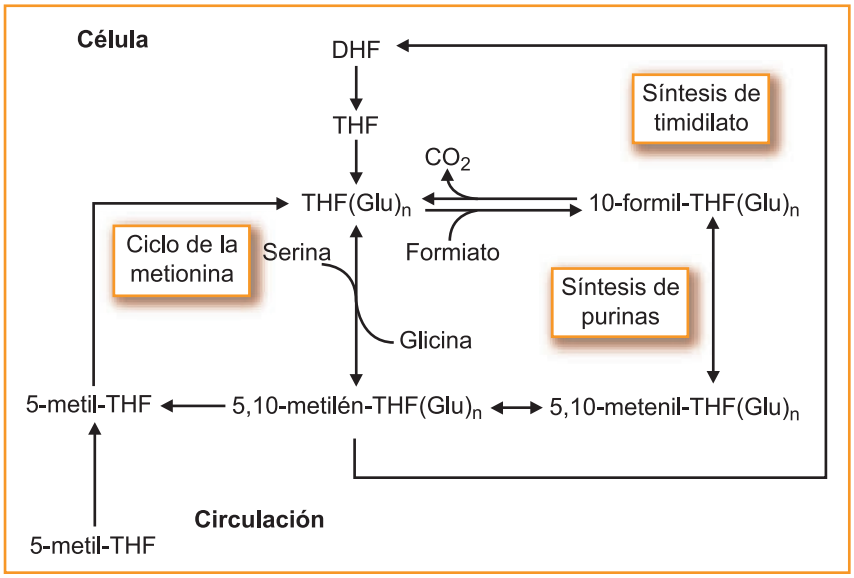


Figura 3. *Metabolismo y función de los folatos en el organismo.*

2.4. Funciones bioquímicas y actividad biológica

En la célula, la función de los folatos reside principalmente en su capacidad para donar y captar unidades de carbono. El THF es capaz de captar el grupo metilo de la serina en una reacción reversible catalizada por la enzima serina hidroximetil transferasa, que da lugar a 5,10-metilén-THF (*ver Capítulo 1.14, apartado 5.2, Figura 18*) **(Figura 3)**.

El 5,10-metilén-THF es el derivado más inestable y se disocia enseguida en formaldehído y THF pero participa en una serie de reacciones de gran importancia:

a) Cede el grupo metileno y dos electrones del anillo de pteridina para la síntesis de monofosfato de desoxitimidina a partir de monofosfato de desoxiuridina, y participa por ello en la síntesis de timidilato y DNA (*ver Capítulo 1.16*). En esta reacción, catalizada por la timidilato sintasa, se genera DHF, el cual debe reducirse para volver a entrar en el ciclo de derivados activos.

b) Puede oxidarse en una reacción reversible catalizada por la metiléntetrahidrofolato deshidrogenasa y dar lugar a 5,10-metenil-THF, el cual a su vez puede transformarse en 10-formil-THF por acción de la metilén-tetrahidrofolato ciclohidrolasa. El 5,10-metenil-THF y el 10-formil-THF participan en la síntesis de purinas (*ver Capítulo 1.16*).

c) Puede reducirse en una reacción irreversible catalizada por la metilén-tetrahidrofolato reductasa que genera 5-metil-THF.

Como se ha mencionado anteriormente, el 5-metil-THF es el derivado que cede su grupo metilo en la síntesis de metionina a partir de homocisteína en una reacción catalizada por la metionina sintasa, enzima que además requiere la presencia de vitamina B_{12} como cofactor. Esta es una de las reacciones principales del ciclo de la metilación, en el cual se sintetiza S-adenosil-metionina, molécula que actúa como donante de grupos metilo en un sinfín de reacciones de transmetilación involucradas en el metabolismo celular (*ver Capítulo 1.14, apartado 5.3, Figura 21*).

Además, es la única reacción en la que el 5-metil-THF puede perder su grupo metilo. Como se ha indicado anteriormente, los folatos en la circulación se encuentran principalmente en la forma de 5-metil-THF. Para que puedan ser retenidos en la célula es necesario que adquieran residuos glutamato adicionales, pero el 5-metil-THF no es buen substrato de la folilpoliglutamato sintasa. El 5-metil-THF debe desmetilarse en la reacción catalizada por la metionina sintasa para convertirse en THF y ser susceptible de poliglutamilación, por lo que esta reacción es también necesaria para la captación de los folatos circulantes.

Vale la pena añadir que el 5-10 metilén THF se origina también en el metabolismo de la glicina (*ver Capítulo 1.14, apartado 5.2*). Por otra parte, la degradación de la histidina proporciona también cierta cantidad de este derivado a través de la formación sucesiva de formiimino THF y metenil THF (*ver Capítulo 1.14, apartado 5.4*). En resumen, los folatos participan en el metabolismo de ciertos ami-

noácidos, en la síntesis de S-adenosil-metionina, en la síntesis de purinas y pirimidinas y, especialmente, en la síntesis de timina, base específica del DNA. Estas últimas funciones explican adecuadamente el papel crucial de los folatos en la proliferación celular y la relación de su deficiencia con la aparición de la anemia megaloblástica.

2.5. Folatos y salud

2.5.1. La carencia clásica: anemia megaloblástica

El ácido fólico es un nutriente esencial para la vida celular, por lo que su deficiencia da lugar al desarrollo de patologías. El trastorno más frecuente que se produce como consecuencia de una deficiencia de ácido fólico es la anemia macrocítica y megaloblástica, cuya sintomatología clínica es muy parecida a la de la anemia inducida por deficiencia de vitamina B_{12}. Si se instaura de forma crónica aparecen, además de signos hematológicos, signos generales y neuropsiquiátricos. Entre los signos generales, cabe destacar la astenia y la anorexia, que van apareciendo de forma progresiva. Entre los signos neuropsiquiátricos se observan trastornos del sueño y la memoria, irritabilidad y convulsiones. En algunos casos, también se pueden producir neuropatía periférica, síndrome cerebeloso, depresión y demencia.

Cuando la deficiencia se produce de forma aguda, como en el caso de la administración de fármacos antifolato (p. ej., metotrexato), se manifiesta a través de sintomatología digestiva, cutánea y hematológica. En lo que atañe al aparato digestivo se producen náuseas y diarrea. En cuanto a la sintomatología cutánea, la deficiencia aguda produce ulceración en las mucosas bucofaríngeas y dermatitis de aspecto variable (herpetiforme, eczematosa, exfoliativa o de tipo acneico).

Cuando los depósitos corporales de folatos son normales, la deficiencia tarda unos 4 meses en desarrollarse. Si hay depleción inicial de los depósitos, la sintomatología aparece a los 2 o 3 meses. Los síntomas y signos de la carencia revierten o mejoran con la administración de ácido fólico, siempre que las lesiones, sobre todo las de tipo neurológico, no sean ya irreversibles.

Epidemiología. La carencia de folatos se produce especialmente en ciertas poblaciones de riesgo y en una serie de circunstancias especiales. Entre ellas cabe destacar:

a) La mujer embarazada. La anemia por carencia de ácido fólico es muy frecuente en el tercer trimestre del embarazo. Se produce principalmente debido al incremento en los requerimientos nutricionales. Es frecuente tanto en países en vías de desarrollo como en los más industrializados.

b) Las personas de edad avanzada. La carencia de folatos en las personas de edad avanzada suele manifestarse a través de signos hematológicos y suele asociarse a trastornos en el comportamiento y en la memoria, y demencia. En la mayor parte de los casos se produce por un aporte inadecuado a través de la dieta.

c) Los prematuros y los recién nacidos. La carencia en ácido fólico se produce cuando los recién nacidos no han podido acumular suficientes reservas de folatos durante la vida intrauterina, cuando son alimentados con leche pobre en ácido fólico, o porque la madre lactante es deficiente en ácido fólico.

d) La patología intestinal. Ciertas patologías, como la enfermedad de Crohn, la enfermedad celíaca, la colitis ulcerosa y la resección intestinal pueden dar lugar a una deficiencia en folatos debido a una alteración de su absorción.

e) El alcoholismo crónico. La deficiencia en folatos es frecuente en los alcohólicos crónicos, sobre todo en los bebedores de vino y bebidas alcohólicas de alta graduación, pero lo es menos entre los consumidores de cerveza, ya que ésta contiene una cantidad relevante de ácido fólico. En los alcohólicos, la deficiencia se produce como consecuencia de varios mecanismos: la disminución de la ingesta, la disminución en la absorción y la perturbación del metabolismo de los folatos por efecto del alcohol, que secuestra folatos a nivel hepático.

f) El cáncer. Las enfermedades neoplásicas malignas suelen ir asociadas a carencia de folatos debido principalmente a una disminución en la ingesta y a un aumento en los requerimientos por parte de los tejidos en rápido crecimiento.

g) La carencia de vitamina B_{12}. La carencia de esta otra vitamina también puede inducir deficiencia en folatos, ya que altera su metabolismo. La carencia de B_{12} inhibe el funcionamiento de la enzima metionina sintasa, lo que conduce a la acumulación de los folatos como metil-THF en detrimento de otros derivados activos.

Tabla 2. PRINCIPALES FÁRMACOS ANTIFOLATO

Actividad farmacológica	Fármacos antifolatos
Antitumorales	Metotrexato
Antipalúdicos	Pirimetamina
Antibióticos	Trimetoprim
Diuréticos	Triamtereno
Antirreumáticos	Sulfasalacina
Antiepilépticos	Primidona, fenitoína, fenobarbital, ácido valproico
Anticonceptivos orales	Progestágenos y estrógenos

h) Las interacciones medicamentosas. Ciertos fármacos interfieren con la absorción o con el metabolismo del ácido fólico, dando lugar a la anemia megaloblástica característica de la carencia en folatos. En la Tabla 2 se resumen los fármacos antifolato de mayor relevancia. En algunos casos, la interacción con el metabolismo del ácido fólico se produce como consecuencia del propio mecanismo de acción del fármaco, como es el caso para metotrexato, trimetoprim, pirimetamina y triamtereno, que son inhibidores de la dihidrofolato reductasa. En otros casos, el efecto antifolato es un efecto secundario y muchas veces de mecanismo desconocido.

i) Los errores congénitos del metabolismo. Son anomalías genéticas en el metabolismo de los folatos que conducen a patologías en general graves y de difícil tratamiento. Se han descrito principalmente en niños, en los que la sintomatología importante es anemia megaloblástica y retraso mental grave. Entre los mismos, cabe destacar:

• El déficit congénito en la absorción: se inhibe la absorción de todos los folatos. Se manifiesta inicialmente por anemia megaloblástica y luego se agrava con retraso mental y convulsiones.

• El déficit de metionina sintasa: se produce por una anomalía genética en el metabolismo de la vitamina B_{12}.

• El déficit en formimino-glutamato transferasa: produce de forma variable retraso mental, convulsiones y anemia megaloblástica. Su mecanismo es desconocido.

• El déficit en dihidrofolato reductasa: da lugar a anemia megaloblástica y signos neurológicos. El déficit total es incompatible con la vida.

• El déficit en metilén-tetrahidrofolato reductasa: da lugar a manifestaciones neurológicas graves, retraso psicomotor y alteraciones del comportamiento. Además, también se observan homocistinuria, hiperhomocisteinemia y deficiencia en metionina, ya que al inhibirse la formación de 5-metil-THF no puede realizarse la síntesis de metionina a partir de la homocisteína.

• El síndrome del cromosoma X frágil: da lugar a malformaciones y retraso mental. Su mecanismo etiológico es todavía desconocido, pero se sospecha pueda estar relacionado con la carencia de ácido fólico.

La anemia megaloblástica suele tratarse con dosis de 10 a 20 mg/día de ácido fólico por vía oral. La forma farmacológica más utilizada es el 5-formil-THF o ácido folínico. Se presenta en formas de administración oral y parenteral, normalmente bajo la forma de folinato cálcico.

2.5.2. Las nuevas funciones

La anemia megaloblástica sigue siendo una patología frecuente, especialmente en poblaciones de riesgo como embarazadas o alcohólicos, pero en la actualidad la deficiencia de ácido fólico parece también relacionarse con otro tipo de patologías, de manera que se han propuesto nuevas fórmulas de terapia o prevención basadas en el ácido fólico.

a) La prevención de los defectos del tubo neural (DTN). Los DTN son malformaciones connatales que afectan a la formación del tubo neural. En sus diferentes formas (anencefalia, meningocele, espina bífida), son especialmente graves y muchas veces incompatibles con la vida. La etiología de estos DTN es multifactorial y en ella están implicados factores tanto genéticos como

ambientales, entre los que el estatus nutricional en ácido fólico desempeña un papel importante.

Sin embargo, los estudios de intervención, en los que se ha determinado el efecto de la suplementación materna con ácido fólico durante la gestación sobre la prevalencia de DTN en los hijos han sido los más definitivos para establecer el papel preventivo del ácido fólico en las primeras etapas de la gestación. El más significativo fue el realizado por el Consejo de Investigaciones Médicas del Reino Unido (*United Kingdom **M**edical **R**esearch **C**ouncil*, MRC). Este organismo planeó un ensayo doble ciego y aleatorizado para evaluar el papel de la suplementación con ácido fólico en la prevención de DTN. El estudio se realizó en 33 centros en 7 países diferentes e involucró a un total de 1.817 mujeres de alto riesgo, es decir, que ya habían tenido una gestación afectada por DTN, y que planeaban una nueva gestación.

Las mujeres fueron clasificadas aleatoriamente en cuatro grupos experimentales que recibieron respectivamente: ácido fólico, ácido fólico y suplemento polivitamínico sin ácido fólico, suplemento polivitamínico sin ácido fólico, o placebo. La dosis de ácido fólico empleada fue de 4 mg/día. Se completaron 1.195 gestaciones antes de que el ensayo se interrumpiera al considerarse que los resultados eran suficientemente concluyentes: entre las 593 mujeres que tomaron el suplemento de ácido fólico, sólo se observaron 6 casos de DTN (1%), mientras que entre las 602 mujeres que no lo recibieron, padecieron DTN 21 hijos (3,5%). Es decir, la suplementación con 4 mg diarios de ácido fólico en la etapa periconcepcional redujo el riesgo de repetición de DTN en un 72%. El preparado polivitamínico sin ácido fólico no ejerció, sin embargo, ningún efecto protector.

El estudio del MRC descrito anteriormente fue un ensayo de recurrencia, es decir, se evaluaba la capacidad del ácido fólico para prevenir un embarazo afectado por DTN en una mujer que ya había padecido uno más embarazos afectados y que, por tanto, se consideraba de alto riesgo. En un ensayo realizado en Hungría, Czeizel y Dudás evaluaron la capacidad del ácido fólico para prevenir la ocurrencia de DTN, es decir, un primer embarazo afectado. El ensayo fue doble ciego y aleatorizado y en él se administró diariamente un suplemento multivitamínico con 0,8 mg de ácido fólico o un suplemento mineral. Ningún niño nació con DTN entre las 2.391 madres que recibieron el suplemento vitamínico con ácido fólico, y se detectaron 6 casos entre las 2.052 madres que recibieron el suplemento mineral. La suplementación con 0,8 mg diarios de ácido fólico en la etapa periconcepcional redujo el riesgo de ocurrencia de DTN significativamente.

El mecanismo protector de la suplementación con folatos no está bien establecido. Es probable que existan problemas en la proliferación celular que impidan el desarrollo embrionario correcto cuando hay una deficiencia vitamínica relativa y defectos genéticos latentes en el metabolismo de los folatos. Se ha invocado también un efecto teratogénico de la homocisteína, aminoácido que se aucmula en estas circunstancias y del que se ha demostrado su acción tóxica vascular, como se detalla en el apartado siguiente.

b) La regulación de la homocisteína. La homocisteína es un aminoácido no proteinogénico que se produce en el metabolismo de la metionina (*ver Capítulo 1.14, apartado 5.3, Figura 21*). La concentración elevada de homocisteína en sangre se asocia con la enfermedad vascular, ya que este aminoácido podría estar implicado en la oclusión vascular y en la trombogénesis. El acúmulo de homocisteína se puede producir por dos vías diferentes: su conversión en metionina y su metabolización a cisteína. En la primera de estas vías se necesita el concurso de los folatos y de la vitamina B_{12}, como ya se ha considerado anteriormente. En la segunda vía se necesita el concurso del piridoxal fosfato **(Figura 4)**. La implicación de los folatos en la metabolización de la homocisteína explica el hecho de que la suplementación con ácido fólico pueda ser efectiva en el tratamiento de la hiperhomocisteinemia y, por tanto, en la prevención de las lesiones vasculares a distintos niveles.

De hecho, cuando se relaciona la ingesta de ácido fólico con la concentración plasmática de homocisteína se establece una correlación negativa entre ambas, de manera que las concentraciones más bajas de homocisteína se mantienen cuando la ingesta de ácido fólico alcanza los 350-400 µg/día. Asimismo, en estudios observacionales parece demostrarse también que la concentración baja de folatos en suero se asocia a un mayor riesgo de infarto de miocardio y enfermedad coronaria.

Es interesante añadir que existen datos recientes que relacionan la hiperhomocisteinemia con la enfermedad cerebrovascular, la demencia senil

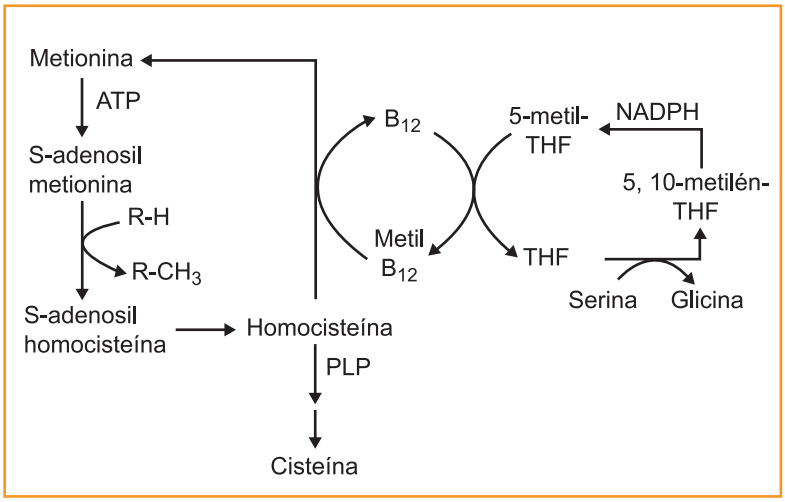


Figura 4. *Metabolismo de la homocisteína. ATP: adenosín trifosfato; PLP: piridoxal fosfato; NADPH: nicotín-adenín dinucleótido reducido.*

y, específicamente, la enfermedad de Alzheimer, lo que subraya el importante papel de los folatos en la prevención de estas enfermedades.

Una causa posible de la hiperhomocisteinemia es la existencia de una variante termolábil de la metilén-tetrahidrofolato reductasa. Recientemente, se ha identificado la presencia de una variante de la enzima metilén-tetrahidrofolato reductasa que presenta menor actividad y es más termolábil, y que se produce por una mutación genética. La presencia de la variante termolábil da lugar a una serie de alteraciones en el metabolismo de los folatos y ha sido implicada en la etiología de la enfermedad cardiovascular y en la etiología de las malformaciones connatales conocidas como defectos del tubo neural (DTN). Los individuos que presentan esta mutación pueden tener un mayor requerimiento de folatos (*ver Capítulo 1.31*).

c) La prevención del cáncer. El estatus en folatos puede participar en la modulación de las transformaciones neoplásicas, especialmente a nivel de ciertos tejidos epiteliales. La deficiencia en ácido fólico parece acelerar el desarrollo tumoral, y la suplementación con ácido fólico podría prevenir el avance del proceso, especialmente en el cáncer de estómago y colon, o reducir el riesgo de carcinogénesis. Una posible explicación del papel preventivo de los folatos en esta situación patológica reside en su capacidad metilante. La metilación del p53, un importantísimo antioncogén, lo hace más estable y puede reafirmar su papel anticanceroso. Es necesarios, sin embargo, un mayor número de estudios para clarificar el papel del ácido fólico en la prevención del cáncer.

2.6. Ingestas recomendadas y toxicidad

2.6.1. Ingestas recomendadas

Se trata de uno de los apartados más "dinámicos" de este Capítulo, ya que las nuevas funciones del folato han supuesto en muchos países la revisión de las ingestas recomendadas. Así, teniendo en cuenta el concepto de requerimiento mínimo diario como la cantidad mínima de la vitamina obtenida de fuentes exógenas necesaria para mantener la normalidad, definida esta última como ausencia de cualquier manifestación de hipofunción bioquímica, se estimaría en aproximadamente 50 µg o 113,3 nmol para la edad adulta. Sin embargo, las ingestas recomendadas de todos los países son intencionadamente mucho mayores, para así poder contar con un almacenamiento corporal suficiente de la vitamina.

La Organización Mundial para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) establecieron en 1987 unas ingestas recomendadas para la población adulta de 3,1 µg (2,3 nmol)/kg de peso corporal, que pueden expresarse también como una ingesta diaria de 200 µg, para un hombre de 65 kg, y de 170 µg (128 nmol) para una mujer de 55 kg. Estas cantidades serían suficientes para que la concentración de la vitamina en los almacenes corporales lograra prevenir situaciones deficitarias durante 3-4 meses de ingesta cero de la vitamina. Con el fin de cubrir las mayores necesidades durante el embarazo, la FAO y la OMS recomiendan una suplementación desde el primer día de gestación de 200-300 µg/día, así como un suplemento adicional de ácido fólico durante la lactancia de 100 µg/día.

Las ingestas recomendadas establecidas en 1989 para la población de los EE UU (***R**ecommended **D**aily **A**llowances*, o RDA) oscilaban entre los 25 µg/día para la infancia, los 35 µg diarios para una edad

Tabla 3. INGESTAS DIETÉTICAS DE REFERENCIA DE FOLATO (IOM 1998, EE UU)

Grupo	Ingesta adecuada (µg de DFE/día)	RDA (µg de DFE/día)
Recién nacidos (ambos sexos)		
0-5 meses	65	
6-11 meses	80	
Niños y adolescentes		
1-3		150
4-8		200
9-13		300
14-18		400
Adultos		400
Embarazo		600
Lactancia		500

DFE: equivalentes dietéticos de folato; IOM: Institute of Medicine; RDA: ingesta diaria recomendada.

entre los 6-12 meses de edad, así como las cantidades de 50, 75, y 100 µg/día para edades de 1 a 3, 4 a 6, y 7 a 10 años, respectivamente. Igualmente, se marcaron unas RDA de 150 µg/día para varones y mujeres de 11 a 14 años de edad, y de 200 µg/día para hombres adultos y 180 µg/día para mujeres adultas. Finalmente, en 1989 se marcaron unas RDA en mujeres embarazadas de 400 µg/día, de 280 µg para los seis primeros meses de lactancia, y de 260 µg para el segundo semestre. En general, estas RDA del año 1989 supusieron una disminución considerable respecto a las anteriores, las de 1980. Más recientemente (1998), y también en los EE UU, el *Food and Nutrition Board* del *Institute of Medicine* (IOM) (la Comisión sobre Alimentación y Nutrición del Instituto de Medicina) ha establecido unas RDA muy superiores a las de 1989: aproximadamente el doble para recién nacidos, el triple para la infancia y adolescencia, y un incremento del doble también para las mujeres adultas no gestantes, y cantidades apreciablemente más altas durante el embarazo y la lactancia. Esta nueva "visión" de las RDA tiene en cuenta por primera vez la función de la vitamina más allá de la deficiencia, y considera las nuevas funciones de una mayor necesidad de la vitamina para prevenir los defectos de tubo neural, así como la disminución del riesgo cardiovascular inducido por la hiperhomocisteinemia. En 1998, el mencionado *Food and Nutrition Board* expresó las ingestas dietéticas de referencia para el folato como "equivalentes dietéticos de folato" (***D**ietary **F**olate **E**quivalent*, DFE), que tratan de expresar la mayor biodisponibilidad del ácido fólico sintético utilizado para la fortificación de alimentos, en comparación con el folato presente de manera natural en los alimentos **(Tabla 3)**.

2.6.2. Toxicidad

Un exceso de ácido fólico puede llegar a enmascarar la deficiencia de vitamina B_{12}, al presentar ambas vitaminas como enfermedad carencial más característica la anemia, indistinguible la debida a la una de la causada por la otra, aunque en el caso de la anemia por falta de B_{12} el cuadro neuropsiquiátrico puede asociarse al hematoológico, lo que no ocurre en el caso del ácido fólico. Esto último puede resultar especialmente grave en el caso de las personas de edad avanzada.

Por su carácter hidrosoluble, las cantidades ingeridas en exceso tienden a ser eliminadas en orina y no a acumularse en los tejidos como ocurre en el caso de las vitaminas liposolubles. Por ello, no se han descrito efectos tóxicos de la vitamina cuando se ingiere a través de la dieta. Cuando el ácido fólico se ingiere en forma de suplemento farmacológico, las dosis administradas pueden ser mucho más elevadas y, aunque dosis diarias de 15 mg en individuos sanos no producen toxicidad, pueden darse reacciones adversas en ciertas situaciones. Entre ellas cabe destacar:

a) Efecto convulsivante. Dosis muy elevadas de ácido fólico (unas 100 veces las ingestas recomendadas) pueden interferir en la acción farmacológica de fármacos anticonvulsivantes como fenobarbital, fenitoína o primidona, precipitando crisis convulsivas en pacientes sometidos a este

tipo de tratamiento. Este efecto es debido a que el ácido fólico y los fármacos antiepilépticos inhiben mutuamente su captación por la membrana de las células intestinales, y quizá también por la membrana de las células cerebrales. El ácido fólico por sí solo también podría tener un efecto convulsivante, según se ha observado en animales de experimentación sometidos a dosis masivas de ácido fólico (45-125 mg/día). Sin embargo, este efecto convulsivante no se ha demostrado en individuos humanos sanos con dosis de hasta 15 mg/día.

b) Interacción con el zinc. Los suplementos de ácido fólico en dosis no muy elevadas (350 µg/día) pueden inhibir la absorción del zinc, aunque los efectos y la magnitud de esta interacción no han sido claramente definidos.

2.7. Fuentes alimentarias

2.7.1. Formas

En los alimentos, los folatos se encuentran mayoritariamente como derivados poliglutámicos y pueden presentarse todas las formas según el estado de oxidación y las sustituciones sobre el anillo de pteridina. El término "ácido fólico" fue introducido por primera vez por Mitchell *et al.*, en 1941, para describir un factor aislado de las hojas de espinaca, de las cuales tomó el nombre. El propio nombre, del latín *folivm*, es indicativo de los alimentos más ricos en esta vitamina: las hojas. El ácido fólico, entendido como ácido pteroil-monoglutámico, está totalmente oxidado y es la forma sintética que normalmente aparece en los suplementos, pero no de forma natural en cantidades significativas.

2.7.2. Alimentos

Las principales fuentes alimentarias de folatos son, por tanto, las verduras y hortalizas, entre las cuales cabe destacar las acelgas y espinacas [140 µg/100 g de porción comestible (PC)], los grelos y las nabizas (140 µg/100 g PC), la remolacha (90 µg/100 g PC) las coles y los guisantes (78 µg/100 g PC). Asimismo, los garbanzos que, hay que recordar, son una leguminosa de amplio consumo en la dieta española y también en la mediterránea, presentan un elevado contenido de folatos (180 µg/100 g PC). Algunas frutas frescas como la naranja, el melón o el plátano aportan también folatos, pero su contenido es menor (20-40 µg/100 g PC), y los frutos secos tales como almendra o avellana, o el aguacate, presentan un contenido alto de folatos (96-110 µg/100 g PC). Otra buena fuente de folatos son los cereales de desayuno fortificados (150-200 µg/100 g PC). La leche y los derivados lácteos contienen de 5 a 50 µg/100 g PC, y las carnes y pescados son, en general, fuentes pobres de folatos a excepción del hígado (182 µg/100 g PC).

2.7.3. Procesos culinarios

Los folatos son sensibles a la luz, los ácidos, los álcalis, los oxidantes y los reductores. Por su carácter hidrosoluble también pueden perderse con el agua de cocción de los alimentos. Por ello, se estima que prácticamente el 50% del contenido inicial de folatos en los alimentos se pierde en los procesos culinarios. La elaboración al vapor o la fritura conducen a pérdidas del contenido inicial en folatos que pueden alcanzar el 90%. Las verduras pierden casi el 70% de su contenido en folatos al hervirlas durante 8 minutos, en gran parte por disolución en el agua de cocción.

2.7.4. Biodisponibilidad

La estimación de la eficacia con que se absorben los folatos y de su biodisponibilidad es todavía incompleta. Sólo los monoglutamatos se absorben directamente en el intestino, mientras que los poliglutamatos deben ser primero hidrolizados a monoglutamatos por acción de una enzima intestinal, la pteroil-poliglutamato hidrolasa. En conjunto, se absorben alrededor del 90% de los monoglutamatos, y entre el 50% y el 90% de los poliglutamatos, aunque las cifras varían mucho según el tipo de alimento y la metodología de análisis empleada. Estas diferencias entre alimentos se deben a la presencia de inhibidores de la hidrolasa u otros factores desconocidos. Las diferencias entre ensayos radican principalmente en la dificultad que entraña la determinación de los folatos en alimentos y en la estimación del verdadero folato endógeno que se elimina, ya que existe una síntesis bacteriana del mismo.

Tabla 4. PAUTAS PARA INTERPRETAR EL ESTATUS CORPORAL EN FOLATOS

Estatus	Folatos en suero (µg/l)	Folatos en eritrocitos (µg/l)
Normal	> 6	> 160
Marginal	3-6	140-160
Deficiente	< 3	< 140

Ejemplos de alimentos con alta disponibilidad de folatos son el plátano, la lima, la piña, el hígado y las levaduras.

Por el contrario, ejemplos de alimentos con baja disponibilidad de folatos son el zumo de naranja, la lechuga, la yema de huevo, la col, la semilla de soja y la simiente del trigo.

2.8. Valoración del estado nutricional

2.8.1. Métodos de evaluación

La valoración del estado nutricional en folatos puede realizarse de varias formas. Las medidas más ampliamente utilizadas consisten en la determinación de la concentración de la vitamina en sangre y, en el caso de los folatos, también se pueden realizar pruebas funcionales indicativas del estado nutricional. A continuación, se expondrán las determinaciones más utilizadas:

a) Concentración de folato total en suero y eritrocitos. En sangre, se puede determinar el contenido de folato total en suero o en eritrocitos. La medida en suero es más dependiente de la ingesta y, por tanto, refleja el efecto de la ingesta reciente, pero no es buen indicador del estatus corporal verdadero. La medida de los folatos eritrocitarios es más estable y, por tanto, es la más utilizada en el diagnóstico de la carencia de folatos. Para interpretar los resultados del estatus en folatos se puede hacer uso de la Tabla 4:

b) Concentración de homocisteína en suero. La medida de este aminoácido es una de las pruebas funcionales que se emplean en la actualidad para determinar el estado corporal en folatos. Es indicativa de la disponibilidad de los folatos para participar en la reacción catalizada por la metionina sintasa, una de las reacciones de metabolización de la homocisteína. Su poder diagnóstico reside en que existe una correlación negativa entre los folatos y la homocisteína, de manera que cuando existe una deficiencia de ácido fólico, suele producirse un aumento en la concentración sérica de homocisteína.

c) Test de excreción de ácido formimino-glutámico (FIGLU). El FIGLU es producto del catabolismo de la histidina y es el compuesto sobre el que actúa la formimino-glutamato transferasa, enzima dependiente del folato, para dar lugar a ácido glutámico. El test se basa en la administración de una dosis (15 g) de histidina por vía oral. Si la excreción de FIGLU en la orina de 8 horas es mayor que lo que se considera normal (18 mg) se puede sospechar una carencia en folatos. Se utilizó mucho en los años 60 y 70 del siglo pasado para diagnosticar la deficiencia de ácido fólico, pero, hoy en día, su aplicación es cada vez más limitada.

d) Test de la supresión con desoxiuridina. Es una herramienta muy utilizada en investigación para identificar los estados deficitarios de folatos o vitamina B_{12}. Consiste en evaluar, de forma indirecta, la capacidad de una preparación de células de médula ósea para sintetizar DNA. Para ello, se mide si la adición de desoxiuridina a la preparación es capaz de inhibir la incorporación de timina radiomarcada en la molécula de DNA.

2.8.2. Diagnóstico de la carencia

Es necesario comenzar diciendo que la deficiencia en ácido fólico es difícil de interpretar y presenta numerosos factores generadores de confusión. De hecho, no se suele presentar una deficiencia en ácido fólico de forma aislada, sino que suele asociarse a deficiencias en la ingesta también de otros nutrientes, o a problemas de malabsorción que afecten a varios componentes de la dieta. Además,

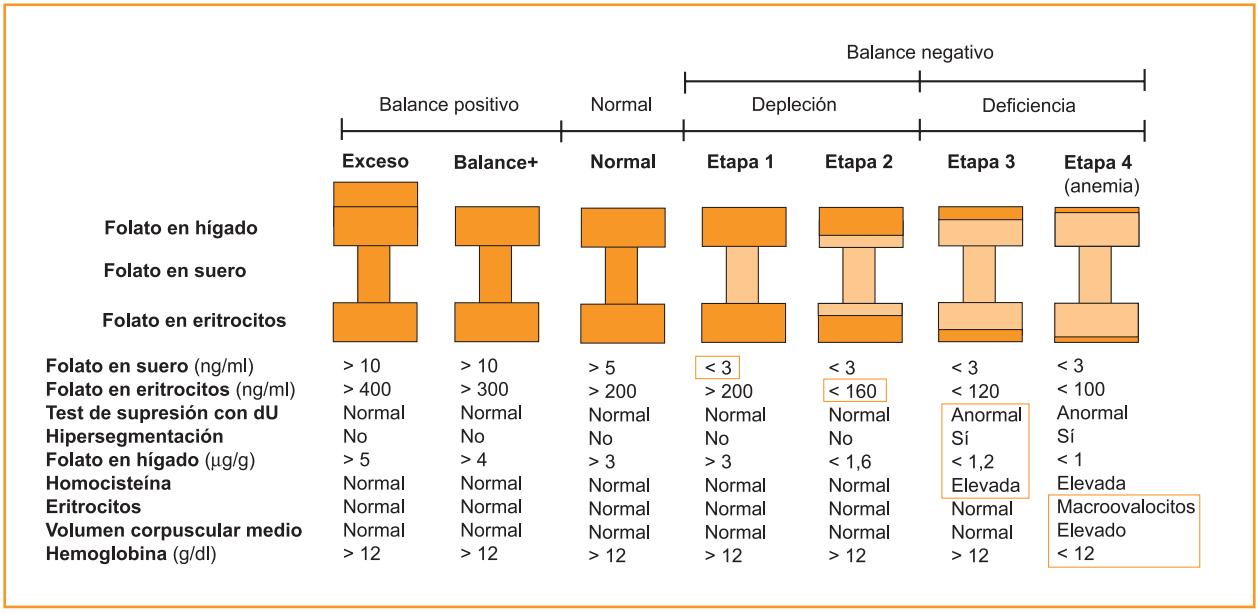


Figura 5. *Deficiencia de ácido fólico (etapas y marcadores).*

ninguno de los métodos de evaluación descritos anteriormente es perfecto por sí solo para el diagnóstico, bien porque no resulta suficientemente específico o porque su sensibilidad no permite distinguir deficiencias subclínicas. Por ello, es necesario tener en cuenta toda la información clínica, morfológica y bioquímica para llevar a cabo un diagnóstico correcto acerca de la presencia o ausencia de una carencia en ácido fólico. A continuación, se describen las distintas etapas que conducen al desarrollo de la anemia por deficiencia en ácido fólico y las modificaciones que sufren los marcadores más empleados **(Figura 5)**:

• **Etapa 1.** La primera etapa de la carencia en folato se caracteriza por una reducción de la concentración sérica de la vitamina a valores por debajo de 3 µg/l. Por el contrario, el contenido de folatos en eritrocitos se mantiene dentro del rango de valores normales. En todos los experimentos llevados a cabo en voluntarios humanos sometidos a deprivación de folato, el descenso en el nivel sérico de folato normalmente se produce en un plazo de 1 a 3 semanas, aunque también se ha visto en otros individuos que la depleción se puede dar hasta en un plazo de dos meses. Sin embargo, la concentración sérica de folatos puede ser baja y sin embargo no existir ningún signo de deficiencia, o no llegar a inducirse la patología. Por ello, no debe considerarse esta situación como un estado real de deficiencia, tal como se hace en numerosas ocasiones, sino como un estado de balance negativo de folatos.

• **Etapa 2.** A medida que la deficiencia progresa, se van agotando las reservas corporales de folatos, lo que conduce a un descenso manifiesto en la concentración de folatos en eritrocitos hasta valores por debajo de 160 µg/l. En general, no se alteran todavía los parámetros morfológicos o bioquímicos, pero en algunos pacientes de alto riesgo, como los alcohólicos, puede manifestarse también una elevación ligera de la concentración sérica de homocisteína.

• **Etapa 3.** En esta etapa, la deficiencia de ácido fólico conduce a alteraciones en el metabolismo, y la eritropoyesis queda afectada. Esta situación se detecta porque es insuficiente la síntesis de DNA y porque los granulocitos presentan hipersegmentación nuclear. Además, el test de supresión con desoxiuridina resulta anormal (aunque se normaliza mediante la adición *in vitro* de folatos) y se eleva significativamente la concentración sérica de homocisteína.

• **Etapa 4.** A medida que la deficiencia de folatos se mantiene en el tiempo, se desarrolla la anemia megaloblástica. Su primera manifestación será una reducción del número de eritrocitos y un aumento en el volumen corpuscular medio, mientras que otros parámetros como el hematocrito o la concentración de hemoglobina se mantendrán

en sus valores normales debido al aumento en el tamaño celular. Posteriormente, quedarán afectados los tres parámetros mensurables propios de la anemia: hematocrito, concentración de hemoglobina y número de eritrocitos. En este momento, son muchas veces detectables en sangre periférica macroovalocitos y macrocitos, y la hipersegmentación es mucho más manifiesta. Al agravarse la anemia, aparecen nuevos signos o se acentúan los ya existentes. Por ejemplo, la médula ósea se hace megaloblástica con una manifiesta hiperplasia eritroide. El número de plaquetas en ocasiones también puede descender y pueden aparecer neutropenia y trombocitopenia. Los síntomas característicos de la anemia, como debilidad, fatiga, dificultad en la concentración, irritabilidad, cefaleas y palpitaciones, aparecen también en esta etapa.

3. Vitamina B_{12}

Fue Combe el primero en describir, en la década del 1820, una anemia letal que se describía como debida a "algún trastorno de los órganos digestivos o de asimilación". Durante aproximadamente un siglo, esta anemia siempre tenía un carácter "mortal", y de ahí su denominación de anemia perniciosa. Fueron Minot y Murphy, en 1926, quienes demostraron que la enfermedad se podía curar ingiriendo grandes cantidades de hígado, lo que les valió el Premio Nobel. Por otro lado, Castle y Townsend observaron que el mecanismo causal era "una incapacidad para completar alguno de los pasos esenciales de la digestión gástrica".

La búsqueda de un principio activo en el hígado culminó con el aislamiento de la vitamina B_{12} en 1948, que se llevó a cabo por un grupo de investigación de Merck en EE UU. Finalmente, en 1964 aún se concedió otro Premio Nobel relacionado con la vitamina B_{12}, concretamente a Hodgkin por su participación en el descubrimiento de su estructura química mediante cristalografía por rayos X.

El conocimiento de la función bioquímica de la vitamina se estableció en 1959, año en que quedó establecida su función como coenzima (adenosil-cobalamina) de la metilmalonil-CoA mutasa, y en 1963 como cofactor (metil-cobalamina) de la metionina sintasa, que está implicada en la metilación de la homocisteína necesaria para la síntesis de metionina, y en la que se encuentra implicado también el ciclo de los folatos.

3.1. Estructura química, propiedades físico-químicas y fuentes

3.1.1. Estructura química

Las cobalaminas son corrinoides constituidos por cuatro anillos pirrólicos de forma muy similar a los de las porfirinas, con cobalto como núcleo central. Poseen diferentes sustituyentes, muchos de ellos de naturaleza amídica, y con el mencionado átomo de cobalto en el centro unido a los cuatro nitrógenos tetrapirrólicos. El sexto enlace puede realizarse con diversos ligandos, dando origen a diferentes formas de la cobalamina:

a) Un ión cianuro (ciano-cobalamina).
b) Un grupo hidroxilo (hidroxi-cobalamina).
c) Un grupo metilo (metil-cobalamina).
d) Un resto 5'desoxiadenosilo (desoxiadenosil-cobalamina).

Tanto la adenosil-cobalamina como la metil-cobalamina son las formas coenzimáticas **(Figura 6)**.

3.1.2. Propiedades físico-químicas

En solución pura se destruye rápidamente por la luz y los rayos UV. Es poco estable en medios ácidos, alcalinos, y en presencia de agentes reductores. Presenta un aspecto de polvo cristalino de color rojo, soluble en alcohol, poco soluble en agua e insoluble en éter y cloroformo.

3.1.3. Fuentes alimentarias

La vitamina B_{12} es producida únicamente por los microorganismos. Los vegetales no la necesitan y no la contienen, salvo raras excepciones (p. ej., la convivencia con microorganismos simbióticos). La fuente de vitamina B_{12} para los animales es, generalmente, la ingestión de microorganismos o la producción por la microbiota intestinal. Por todo ello, las fuentes alimentarias de esta vitamina son los productos animales. Se relacionan, a continuación, los más destacados de los mismos:

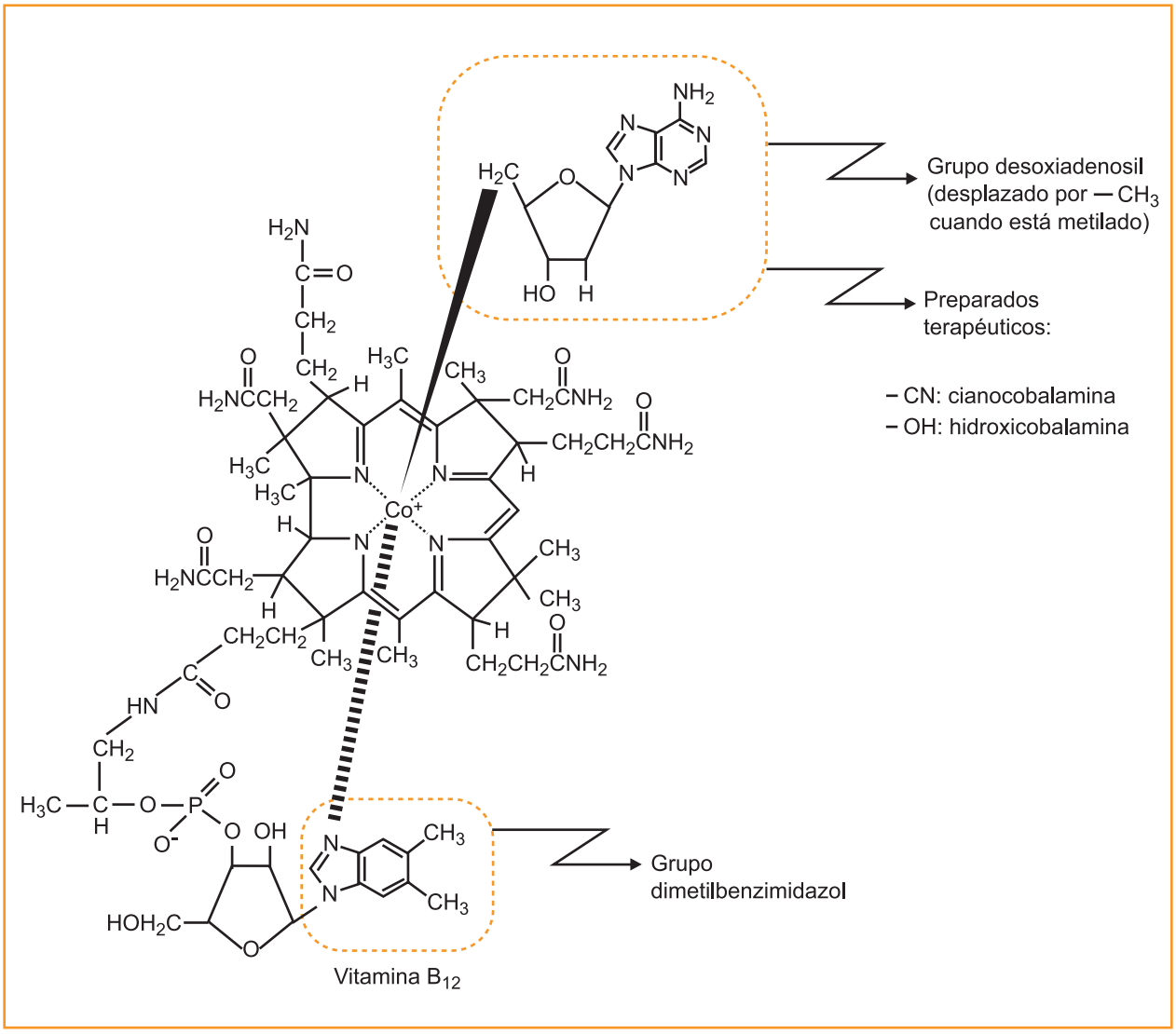


Figura 6. *Estructura de la vitamina B_{12}. CN: cianocobalamina; OH: hidroxicobalamina.*

• Muy buenas fuentes (50-100 µg/100 g): hígado, riñón y sesos.

• Buenas fuentes (5-50 µg/100 g): yema de huevo, almejas, ostras, cangrejo, sardinas, salmón, hígado de pollo, etc.

• Fuentes de contenido bajo (0,2-5 µg/100 g): carnes (vaca, cordero, cerdo, pollo); huevo entero, queso, leche de vaca, bacalao, merluza, lenguado, atún, etc.

Los procesos industriales y culinarios afectan al contenido total de vitamina B_{12}; así, al pasteurizar la leche durante 2-3 segundos se pierde aproximadamente el 7% del contenido de vitamina B_{12}; si se la hierve durante 2-5 minutos las pérdidas alcanzarán hasta el 30%, mientras que la esterilización lenta (13 min a 119-120 °C) llega a provocar unas pérdidas de hasta el 77%.

3.2. Digestión, absorción, metabolismo y mecanismo de acción

3.2.1. Digestión

Las cobalaminas unidas a las proteínas alimentarias necesitan ser liberadas gracias al ácido clorhídrico gástrico y la pepsina, para unirse después

a otras proteínas (proteínas R o haptocorrinas) procedentes de la saliva y el jugo gástrico. La vitamina B_{12} se libera de las proteínas fijadoras por la acción de las proteasas pancreáticas, y se une al llamado factor intrínseco (FI), procedente principalmente de las células parietales gástricas.

3.2.2. Absorción

Para que la vitamina B_{12} se pueda absorber, es necesario que tres sectores del tracto digestivo estén anatómica y funcionalmente íntegros: estómago, páncreas e íleon terminal. El estómago debe aportar la acidez y las enzimas necesarias para liberar la vitamina (factor extrínseco de Castle) de su fuerte unión a las proteínas alimentarias, y posteriormente ligarla a una proteína R de origen salivar y gástrico. Por otra parte, el factor intrínseco de Castle, una glicoproteína segregada por las células parietales gástricas, es esencial para que la vitamina se absorba en el íleon. El páncreas, con la producción de tripsina y bicarbonato, facilita su absorción, que tiene lugar en el íleon terminal.

La entrada en la célula de la mucosa es un mecanismo saturable que hace que sólo una cantidad determinada de la vitamina B_{12} de la dieta (1-2 mg/ración) se pueda aprovechar. A dosis grandes se produce una absorción pasiva no saturable. A niveles fisiológicos de ingesta, la absorción puede llegar a suponer un 60% de la cantidad ingerida, y disminuye a menos del 10% con ingestas muy superiores.

3.2.3. Metabolismo

Al penetrar el complejo vitamina B_{12}-factor intrínseco, lo hace a través de un receptor específico situado en íleon. Una vez disgregado este complejo, las cobalaminas pasan a plasma ligadas a proteínas específicas, las transcobalaminas (TCI, TCII, y TCIII).

La cobalamina que pasa a la sangre desde el enterocito aparece ligada a la TCII, y lo hace en menos proporción ligada a la TCI. Esta última transporta la cobalamina metilada, mientras que la TCII es una globulina que transporta la vitamina hacia el hígado a través del sistema porta y también a otros tejidos. Este complejo TCII-B_{12} interactúa con el receptor celular, y hace que se convierta en dos coenzimas, uno citosólico y otro mitocondrial.

Una vez en el espacio intracelular, la cobalamina es sometida a la acción de las reductasas que originan las formas con cobalto II y cobalto I. Una vez obtenida la forma reducida (CBIr), puede seguir dos vías: en la mitocondria se origina la desoxiadenosil-cobalamina, que se une a la metilmalonil-CoA mutasa, mientras que en el citoplasma se forma la metil-cobalamina que actúa con la metionina sintasa; ambas formas constituyen el 95% del total corporal.

La cantidad de cobalamina almacenada en los tejidos del individuo adulto oscila entre 2 y 3 mg, y la mitad se encuentra en hígado. Hay circulación enterohepática con una ligera excreción por las heces (aprox. 2 mg/día), no conociéndose ningún mecanismo metabólico degradativo. La excreción se produce en tracto gastrointestinal, riñón y piel. Si la cantidad de vitamina B_{12} circulante excede la capacidad de unión a las transcobalaminas, dicho exceso se excreta por vía urinaria.

3.2.4. Acciones

Hay diferentes reacciones metabólicas que requieren la intervención de la vitamina B_{12} y, a veces, coparticipa en elllas el ácido fólico:

• Conversión de homocisteína a metionina: interviene aquí el metil-tetrahidrofolato (CH_3-THF_4). Este último compuesto cede el radical metilo a la cobalamina, y ésta lo transfiere a la homocisteína para formar metionina (*ver apartado 1.5*).

• Conversión de la L-metil-malonil-CoA en succinil-CoA: esta reacción es catalizada por la metilmalonil-CoA mutasa, que utiliza a nivel mitocondrial la 5'-desoxiadenosil cobalamina. Se trata de una etapa metabólica fundamental en el metabolismo de algunos aminoácidos, como la valina y la isoleucina, entre otros (*ver Capítulo 1.14, apartado 5.6, Figura 27*).

3.3. Valoración del estado nutricional

Debido a que el desarrollo progresivo de la atrofia gástrica está determinado genéticamen-

Tabla 5. VALORACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL DE LA VITAMINA B_{12}

Método	Valores	Observaciones
Vitamina B_{12} sérica (cobalaminas)	Deficiente: < 100 pmol/l	Bien aceptado
TC-II ligada a la B_{12}	Deficiente: < 15 pmol/l	Refleja repleción tisular
Índices hematológicos	VCM > 100 Hb < 7,5 mg/dl	No específico
Ácido metilmalónico	Deficiencia: > 1µmol/l (suero)	Mejor prueba funcional
Prueba de supresión de la desoxiuridina	En deficiencia, aumento	No disponible como prueba rutinaria
Homocisteína total	Deficiencia: > 14 µmol/l	No específico

VCM: volumen corpuscular medio de los eritrocitos.

te, aparecerá en algún momento entre los 50 y 90 años de edad en la mayoría de las personas con una disminución de la capacidad para absorber la vitamina B_{12} de los alimentos; resultará, por tanto, necesario, a partir de los 50 años de edad y cada cinco años, medir la holo-transcobalamina II (holo-TCII) en el suero. La razón es que la holo-TCII es la proteína circulante que libera la vitamina B_{12} hacia las células que sintetizan DNA. Esta holo-TCII sérica disminuye antes de que lo haga la vitamina B_{12} total, por lo que su determinación va a permitir iniciar la administración de B_{12} con el fin de evitar que el balance negativo inicial progrese hasta una situación clínica peligrosa.

También se emplea bastante frecuentemente la prueba de Schilling, que mide la absorción de vitamina B_{12} (pero no sus depósitos). Asimismo, la medición de los niveles séricos totales de vitamina B_{12} es un indicador relativamente tardío de deficiencia.

En definitiva, la persona que deje de ingerir vitamina B_{12} pasa por cuatro estadios diferentes de balance negativo:

- Depleción sérica (holo-TCII).
- Depleción celular (descenso de la holo-haptocorrina y de la vitamina B_{12} en los hematíes).
- Deficiencia bioquímica (disminución de la velocidad de síntesis de DNA, así como elevación de la homocisteína y del ácido metilmalónico séricos).
- Deficiencia clínica (anemia).

La **Tabla 5** resume los métodos y los valores de los parámetros utilizados en la valoración del estado nutricional de la vitamina B_{12}.

3.4. Deficiencia, ingestas recomendadas y toxicidad

3.4.1. Deficiencia

La falta de vitamina B_{12} es la causa evidente de dos enfermedades, la anemia megaloblástica y la neuropatía. Más recientemente, se ha asociado a esta vitamina con el proceso de aterosclerosis y con malformaciones connatales como los defectos del tubo neural.

Anemia macrocítica. La deficiencia de vitamina B_{12} origina una anemia macrocítica normocrómica que resulta indistinguible de la que caracteriza a la deficiencia en folatos.

Al igual que en el caso de la deficiencia en folatos, la "megaloblastosis" o aumento del tamaño celular se presenta también a nivel enterocitario.

Neuropatía. La deficiencia de vitamina B_{12} produce una neuropatía con desmielinización discontinua, difusa y progresiva. Se caracteriza por parestesias en manos y pies, sensación propioceptiva y vibratoria anormales con pérdida del sentido postural, y ataxia espástica. Aunque no está perfectamente establecido, se considera que la lesión neurológica podría deberse a una carencia de grupos metilo como consecuencia de la imposibilidad de sintetizar metionina y S-adenosil-metionina, o de eliminar la homocisteína, tóxica para el encéfalo. Cabe recordar que la homocisteína se convierte en una neurotoxina y en una vasculotoxina cuando se elevan sus niveles.

Aterosclerosis. Ya se ha comentado, al referirse al ácido fólico, que los niveles sanguíneos

aumentados del aminoácido homocisteína constituyen un evidente factor de riesgo en el proceso aterosclerótico. La elevación del aminoácido se puede deber a la deficiencia de ácido fólico, de vitamina B_{12}, o de vitamina B_6.

3.4.2. Causas de deficiencia

Entre las principales, están las siguientes:

a) Ingesta disminuida. Si la dieta contiene alimentos de origen animal el desarrollo de deficiencia es prácticamente imposible, y sólo en el caso del vegetarianismo estricto se pueden producir problemas, después de muchos años de seguimiento de este tipo de dietas. Habitualmente, los vegetarianos estrictos suelen tomar suplementos vitamínicos con B_{12}. Además, no debe olvidarse que existe una importante circulación enterohepática, lo que asegura su reutilización, y una pequeña biosíntesis por la microbiota del colon.

b) Alteraciones gástricas. En aquellas situaciones en que el fallo reside en una producción disminuida de factor intrínseco (FI). Esto ocurre en la edad avanzada, o en situaciones caracterizadas por atrofia gástrica de origen genético. La menor producción de FI puede ocurrir en pacientes que hayan sufrido gastrectomía total, o también parcial cuando se acompaña de úlcera gástrica. La cirugía derivativa gástrica para el tratamiento de la obesidad también supone un factor de riesgo. Por último, la hipoclorhidria de la edad avanzada puede ser causa de deficiencia, al no liberarse la vitamina de las proteínas alimentarias.

c) Alteraciones intestinales. Las que habitualmente se producen por una secreción pancreática disminuida, con niveles menores de enzimas pancreáticas y de bicarbonato, impidiendo la liberación de la vitamina de las proteínas de fijación. La resección o daño ileal, donde están localizados los receptores para el complejo B_{12}-FI, puede conducir a la deficiencia vitamínica. Los síndromes de malabsorción producen también deficiencia vitamínica, como es el caso del esprúe tropical y la enfermedad de Crohn.

d) Errores congénitos. Hay diversos errores que conducen a la formación de cobalaminas anormales, como es el caso de dos adenosil-cobalaminas anormales (Cbl A y B), y cobalaminas mutantes anormales de la metil-cobalamina y de la adenosil-cobalamina (Cbl1 C, Cbl D, y Cbl F), que conducen a trastornos metabólicos como aciduria metil malónica, acidosis metabólica, cetonemia, hiperamoniemia, hiperglicinemia, e hipoglucemia.

e) Interacciones con fármacos y alcohol. La colchicina, la neomicina o el etanol tienen la posibilidad potencial de inducir deficiencia vitamínica.

3.4.3. Ingestas recomendadas y toxicidad

Las necesidades de vitamina B_{12} se estiman en 2 µg/día. Respecto a la toxicidad, la vitamina B_{12} no debe emplearse en cuadros mieloproliferativos, especialmente en el caso de leucemia. En cualquier caso, no se han descrito casos de toxicidad por sobredosificación, hasta ingestas de 1.000 µg.

4. Resumen

- El presente Capítulo se encuentra estructurado en dos partes diferenciadas, de acuerdo con las dos vitaminas hidrosolubles que son objeto del mismo. Sin embargo, debido a algunas acciones bioquímicas que comparten, así como a la patología "clásica" -la anemia- que su deficiencia origina, en algunos apartados se hace referencia de manera indistinta a ambas.

- El Capítulo, y tanto para el ácido fólico como la vitamina B_{12}, se inicia con una Introducción que pretende, desde la perspectiva histórica de su descubrimiento y síntesis, llegar a las nuevas funciones que potencialmente se les han atribuido. Continúa con una breve descripción de la estructura química y de los vitámeros correspondientes, haciendo especial mención de las diferencias en la actividad biológica de los mismos. Se hace, además, un repaso de las principales fases de la digestión, y de los procesos de absorción y metabolismo, así como de los factores que pueden interferir en los mismos. A continuación, se recogen las ingestas recomendadas actualizadas y, asimismo, se destacan las principales fuentes alimentarias de las vitaminas, junto con los potenciales problemas de toxicidad que se pudieran derivar de un exceso de ingesta. Al apartado de la relación entre las vitaminas y la salud se le presta especial atención, indicando especialmente aquellas nuevas funciones para las que tienen un papel demostrado, como es el caso del ácido fólico y la prevención de los defectos del tubo neural, o la regulación del metabolismo de la homocisteína, factor de riesgo emergente en los procesos vasculares. Igualmente, se tratan las principales causas por las que se puede producir una deficiencia vitamínica.

- En la última parte, se analizan y discuten los marcadores más empleados para la valoración nutricional de dichas vitaminas, las dificultades analíticas y los problemas de interpretación.

5. Bibliografía

Alonso Aperte E, Varela Moreiras G. Vitaminas hidrosolubles. En: García Arias MT, García Fernández MC (eds.). Nutrición y Dietética para Enfermería. Ediciones de la Universidad de León, 2003: 149-64.

Varela Moreiras G, Alonso-Aperte E. Ácido fólico y salud. En: Serie Informes de la Fundación Española de la Nutrición (FEN), n.º 10. Madrid, 1999.

Varela Moreiras G, Alonso-Aperte E. Concepto dinámico de la interacción nutriente-fármaco. En: Miján de la Torre A (ed.). Tratado de Nutrición clínica. Bases y fundamentos (I). Editorial Nutricia, 2000.

Varela Moreiras G. Bioquímica en Nutrición: vitaminas. En: Miján de la Torre A (ed.). Técnicas y métodos de investigación en nutrición humana. Editorial Glosa, 2002.

Varela Moreiras G, Mataix J. Vitaminas y proliferación celular. Ácido fólico y vitamina B_{12}. En: Mataix J (ed.). Nutrición y alimentación humana. Ergon Ediciones, 2002: 160-73.

Varela-Moreiras G. Vitaminas y Homocisteína. En: Varela Moreiras G, Alonso-Aperte E (eds.). Vitaminas y salud: de las enfermedades carenciales a las degenerativas. Fundación BBVA, 2003.

Varela Moreiras G. Folate deficiency: from the basic to clinic. En: Vaquero P, Carvajal A, García Arias T, Sánchez-Muniz FJ (eds.). Bioavailability of Micronutrients and Minor Dietary Compounds. Metabolic and Technological Aspects. Research Signpost. Kerala, India, 2003: 69-81.
Las anteriores referencias contienen aportaciones del autor del presente Capítulo a la temática de las vitaminas ácido fólico y B_{12}.

Centers for Disease Control. Use of folic acid for prevention of spina bifida and other neural tube defects-1983-91. MMWR 1991; 40: 513-6.
Revisa el posible papel del ácido fólico en la prevención de los defectos del tubo neural, a la luz de los conocimientos habidos en su momento, por los que la suplementación vitamínica puede llegar a prevenir hasta el 70% de este tipo de malformaciones congénitas.

Czeizel A, Dudás I. Prevention of the first occurrence of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. N Engl J Med 1992; 327: 1832-5.
Artículo clave para entender que el ácido fólico puede tener un papel crítico, no ya en la recurrencia, sino en la ocurrencia de los defectos del tubo neural.

Food and Nutrition Board. IOM (Institute of Medicine). Folate. En: Dietary Reference Intakes for Thiamine, Riboflavin, Niacin, Vitamin B_6, Folate, Vitamin B_{12}, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. National Academic Press. Washington DC, 1998; 8: 196-305.

Food and Nutrition Board. IOM (Institute of Medicine). Vitamin B_{12}. En: Dietary Reference Intakes for Thiamine, Riboflavin, Niacin, Vitamin B_6, Folate, Vitamin B_{12}, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. National Academic Press. Washington DC, 1998; 9: 306-56.
Los anteriores textos corresponden a una serie de volúmenes que han supuesto una auténtica revolución, en cuanto a la transformación del concepto de ingesta recomendada o RDA (*Recommended Dietary Allowances*) en el de ingestas dietéticas de referencia, IDR (*Dietary Reference Intakes*). Se evalúan, de forma precisa, los diferentes factores que pueden afectar a las IDR, en las diferentes etapas de la vida.

MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. Lancet 1991; 338: 131-7.
Este artículo supuso, en su momento, el apoyo más importante para demostrar que dosis muy elevadas de suplementos con ácido fólico a mujeres de alto riesgo que planifican un embarazo pueden prevenir la recurrencia de nacimientos con defectos de tubo neural en un porcentaje importante de las mismas.

Rojas Hidalgo E. Vitaminas: consideraciones bioquímicas, nutricionales y terapéuticas. Universidad Nacional de Educación a Distancia. Madrid, 1998.
Magnífica obra de revisión de diferentes aspectos de las vitaminas, desde la nomenclatura, química, fuentes, absorción y metabolismo, hasta la relación "clásica" y "nueva" con la salud, así como aspectos de toxicidad.

6. Enlaces web

- www.navigator.tufts.edu
- www.nutrition.org.uk
- www.sennutricion.org
- www.foodstudents.net
- www.euro.who.int/nutrition

1.23. Vitamina A

Rosa María Ortega Anta ■ María del Carmen Mena Valverde ■
Pedro Andrés Carvajales

Capítulo 1.23.

Vitamina A

1. Introducción

2. Vitamina A (conceptos e historia)

3. Estructura y propiedades

4. Fuentes alimentarias

4.1. Biodisponibilidad de la vitamina A

5. Absorción, distribución, metabolismo, almacenamiento y eliminación

5.1. Absorción
5.2. Distribución
5.3. Metabolismo
5.4. Almacenamiento
5.5. Eliminación

6. Funciones

6.1. Visión
6.2. Diferenciación de células epiteliales
6.3. Crecimiento
6.4. Metabolismo óseo
6.5. Desarrollo dentario
6.6. Reproducción
6.7. Embriogénesis
6.8. Hematopoyesis
6.9. Vitamina A como coenzima
6.10. Comunicación intercelular
6.11. Acción anticancerígena
6.12. Antioxidante
6.13. Prevención de enfermedades cardiovasculares
6.14. Inmunidad
6.15. Regulación de los depósitos de grasa corporal
6.16. Otras funciones
6.17. Acciones de otros carotenoides sin actividad provitamínica A

7. Requerimientos

7.1. Niños
7.2. Adultos
7.3. Embarazo y lactación
7.4. Ancianos

8. Evaluación de la situación nutricional en vitamina A. Deficiencia y exceso
8.1. Deficiencia severa
8.2. Deficiencia marginal
8.3. Estado satisfactorio
8.4. Estado tóxico o excesivo

9. Cuantificación

10. Epidemiología

11. Interacciones con otros nutrientes y con medicamentos
11.1. Interrelaciones con otros nutrientes
11.2. Interacciones con medicamentos

12. Indicaciones terapéuticas

13. Suplementación y preparados de retinol
13.1. Retinol
13.2. Tretinoína
13.3. Isotretinoína
13.4. β-caroteno

14. Resumen

15. Bibliografía

16. Enlaces web

Objetivos

- Esquematizar las estructuras más importantes de los compuestos con la actividad biológica del retinol.
- Identificar los alimentos en los que se encuentra presente la vitamina A en mayor medida y las formas predominantes en ellos.
- Profundizar en los procesos por los que pasa la vitamina A en el organismo para ejercer sus funciones. Engloba la absorción, distribución, metabolismo, almacenamiento y eliminación.
- Recordar las funciones de la vitamina A, así como aprender los mecanismos de acción implicados en las mismas y funciones identificadas más recientemente.
- Establecer los requerimientos de la vitamina A para cada colectivo.
- Conocer los métodos empleados en la valoración del estatus en vitamina A, así como los cuadros que se producen ante una deficiencia o un exceso de la vitamina.
- Resumir la situación actual, tanto de ingestión de vitamina A como de estatus en la misma.
- Definir las relaciones de la vitamina con otros nutrientes y fármacos, y las principales aplicaciones terapéuticas.

1. Introducción

La vitamina A es un nutriente de gran importancia, ya que su deficiencia es la causa más común de enfermedades oculares como la xeroftalmia, que puede llevar a la ceguera, principalmente en niños, en países en vías de desarrollo. Este hecho, unido al mayor riesgo de padecer infecciones, hace que la deficiencia de esta vitamina sea responsable del aumento de la morbilidad y mortalidad infantil.

Además, esta vitamina antioxidante ejerce un efecto protector frente a los procesos de oxidación celular mediados por radicales libres, implicados en la aparición de enfermedades crónicas como el cáncer, la aterosclerosis, las cataratas e incluso en el envejecimiento. Así, unos bajos niveles de vitamina A puede aumentar el riesgo de padecer diversas enfermedades crónicas. Por otra parte, la vitamina A está implicada en un gran número de procesos fisiológicos, por lo que es necesario que sus requerimientos se cubran adecuadamente.

Pese a haber sido la primera vitamina aislada, muchas de sus acciones fisiológicas han sido reconocidas muy recientemente y es previsible, teniendo en cuenta las últimas investigaciones, que todavía quede mucho por aclarar en torno a la acción, beneficios y riesgos de las diferentes dosis y formas de esta vitamina.

2. Vitamina A (conceptos e historia)

Vitamina A es el término genérico que se utiliza para describir los compuestos con la actividad biológica del retinol, como son los retinoides y los carotenoides con actividad provitamínica A.

Como su letra indica, la vitamina A fue la primera vitamina en ser definida y, ya desde los tiempos de los antiguos egipcios y griegos, se utilizaba el jugo de hígado para la curación de la ceguera nocturna.

En 1915 la vitamina fue denominada por McCollum y Davis "Factor liposoluble A" atribuyéndosele como propiedades la estimulación del crecimiento, siendo en 1920 cuando Drummond le asignó el término "vitamina A", aunque no fue aislada hasta 1937 por Morton.

Por otro lado, en 1930 Moore mostró que la molécula del β-caroteno presentaba actividad vitamínica A, y desde entonces hasta ahora han sido numerosas las funciones fisiológicas que se le han atribuido, tanto al β-caroteno como al resto de compuestos englobados en las denominadas vitaminas A.

3. Estructura y propiedades

Los retinoides con actividad vitamínica A se encuentran en la naturaleza en tres formas: el alcohol (retinol), el aldehído (retinal o retinaldehído) y el ácido (ácido retinoico) **(Figura 1)**.

Además del todo-*trans*-retinol, otros cinco isómeros (7-*cis*, 9-*cis*, 11-*cis*, 13-*cis* y 9,13-*cis*) tienen actividad vitamínica A. El isómero 11-*cis* retinol presenta una especial importancia en la visión **(Figura 1)**.

Las formas con mayor actividad fisiológica son el retinol y el ácido retinoico, siendo el palmitato de retinol la forma de depósito más importante.

Los carotenoides generan retinoides al metabolizarse, de los cuales unos 50 producen retinol, por lo que se les refiere como provitaminas A, siendo el más activo de todos el β-caroteno, un dímero de retinol. Otros carotenoides con actividad provitamínica A son el α-caroteno, γ-caroteno y β-criptoxantina **(Figuras 2a y 2b)**.

Los compuestos vitamínicos A pertenecen al grupo de los isoprenoides, estando formados por cuatro unidades de isopreno que contienen cinco dobles enlaces conjugados. En concreto, los carotenoides son hidrocarburos poliénicos sintetizados por las plantas a partir de ocho unidades de isopreno **(Figuras 2a y 2b)**.

Los carotenoides pueden ser clasificados en dos grandes grupos en base a su estructura:

- Carotenoides hidrocarbonados o carotenos, los cuales no contienen oxígeno.
- Xantofilas u oxicarotenoides, que contienen grupos carboxilos y/o hidroxilos en sus grupos constituyentes.

Tanto los retinoides como los carotenoides son liposolubles y por tanto solubles en la mayor parte de los solventes orgánicos e insolubles en medios acuosos.

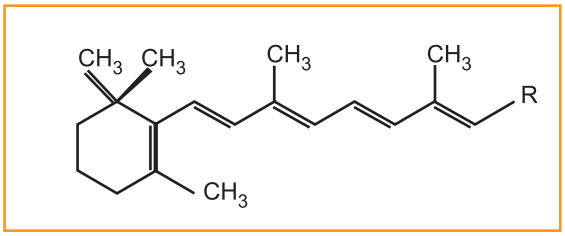
En cuanto a las propiedades físicas, la mayoría de la formas de vitamina A son compuestos cristalinos con un punto de fusión relativamente bajo, y debido a su estructura presentan un espectro de absorción característico que se utiliza para su identificación.

Debido a sus propiedades físico-químicas esta vitamina es estable al tratamiento térmico moderado así como a los agentes reductores y al medio alcalino. Sin embargo, es muy sensible a la luz, oxidación, isomerización y polimerización debido a su estructura de dobles enlaces conjugados. En general, los ésteres son más estables que las formas alcohólicas y los carotenoides son algo menos estables que los retinoides.

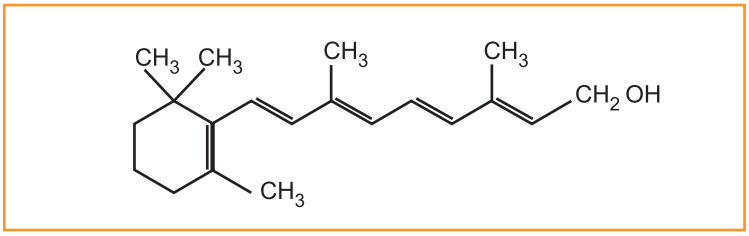
4. Fuentes alimentarias

La vitamina A está presente en los alimentos en diferentes formas. Así, en forma de retinoides preformados se encuentra en los tejidos grasos animales, mientras que como carotenoides con actividad provitamínica A aparece en los pigmentos coloreados de muchas plantas, principalmente en las de color verde, rojo, naranja y amarillo.

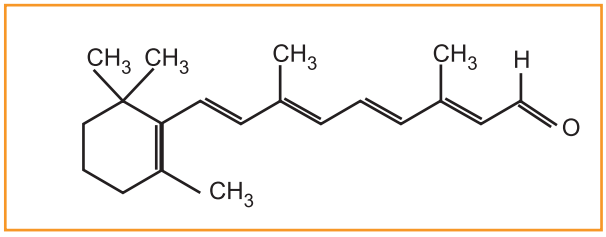
En la leche, la carne y los huevos, la vitamina A está presente en varias formas, principalmente como ésteres de ácidos grasos de cadena larga, siendo uno de los predominantes el palmitato de retinol.



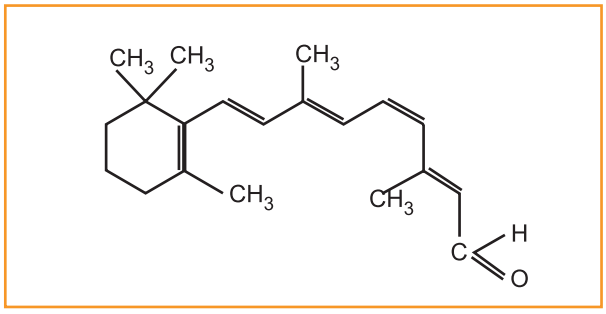
Estructura de los retinoides



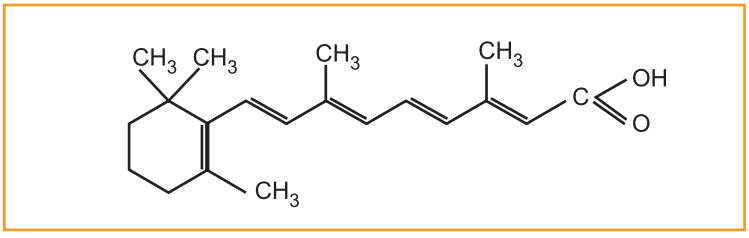
Todo-*trans*-retinol



Todo-*trans*-retinal



11-*cis*-retinal



Todo *trans*-ácido retinoico

Figura 1. *Estructuras químicas de algunos retinoides.*

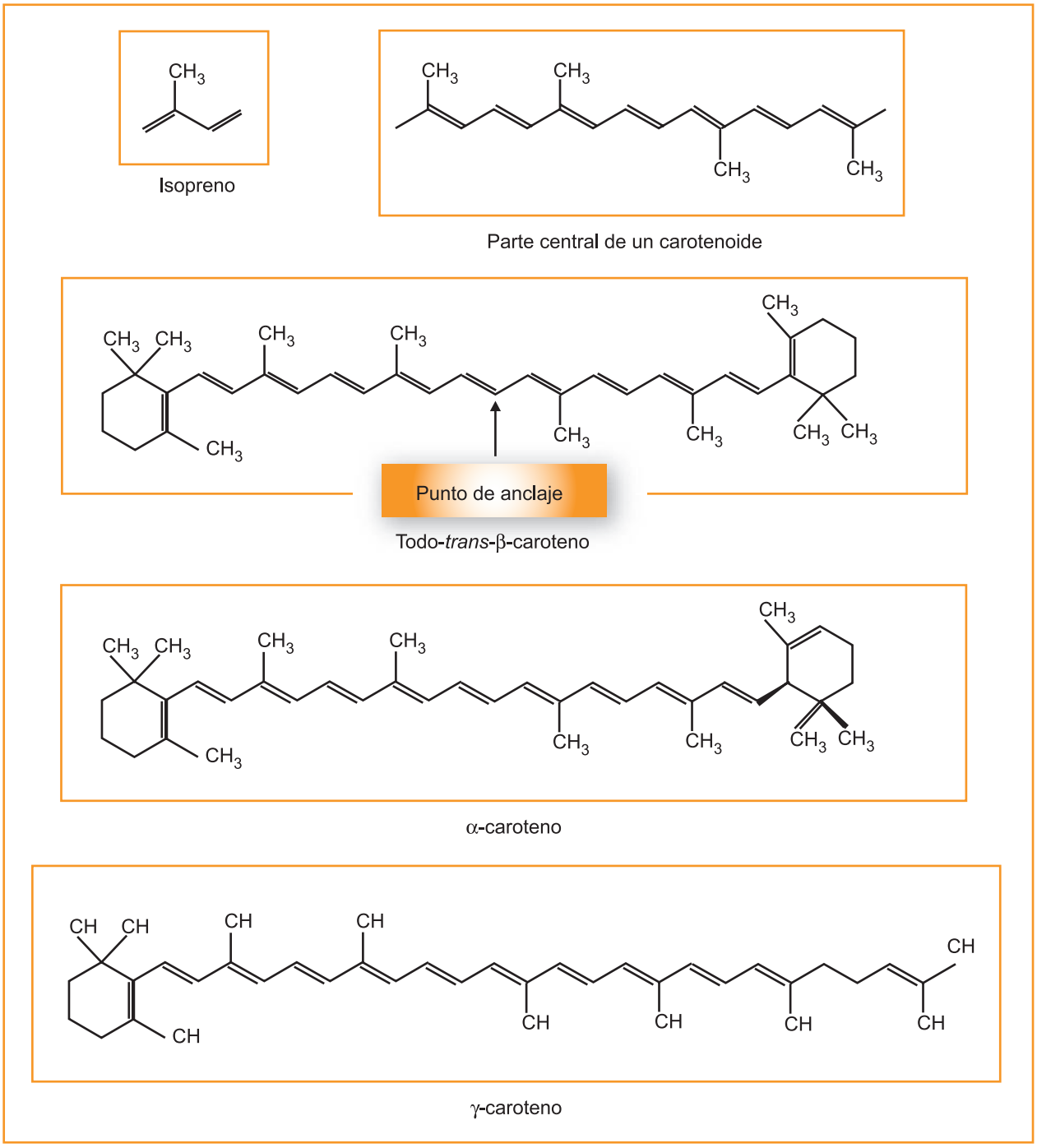


Figura 2a. *Estructuras químicas de algunos carotenoides.*

Los carotenoides, además de en el reino vegetal, pueden estar presentes en alimentos de origen animal, dependiendo del contenido de la dieta seguida por los animales de abasto. Esto es debido a que los animales, aunque son incapaces de sintetizar los carotenoides, pueden asimilar estos pigmentos a partir de los pastos que ingieren, cambiando su estructura a las formas activas de la vitamina A. En general, los alimentos con un mayor contenido en vitamina A son el hígado, los aceites

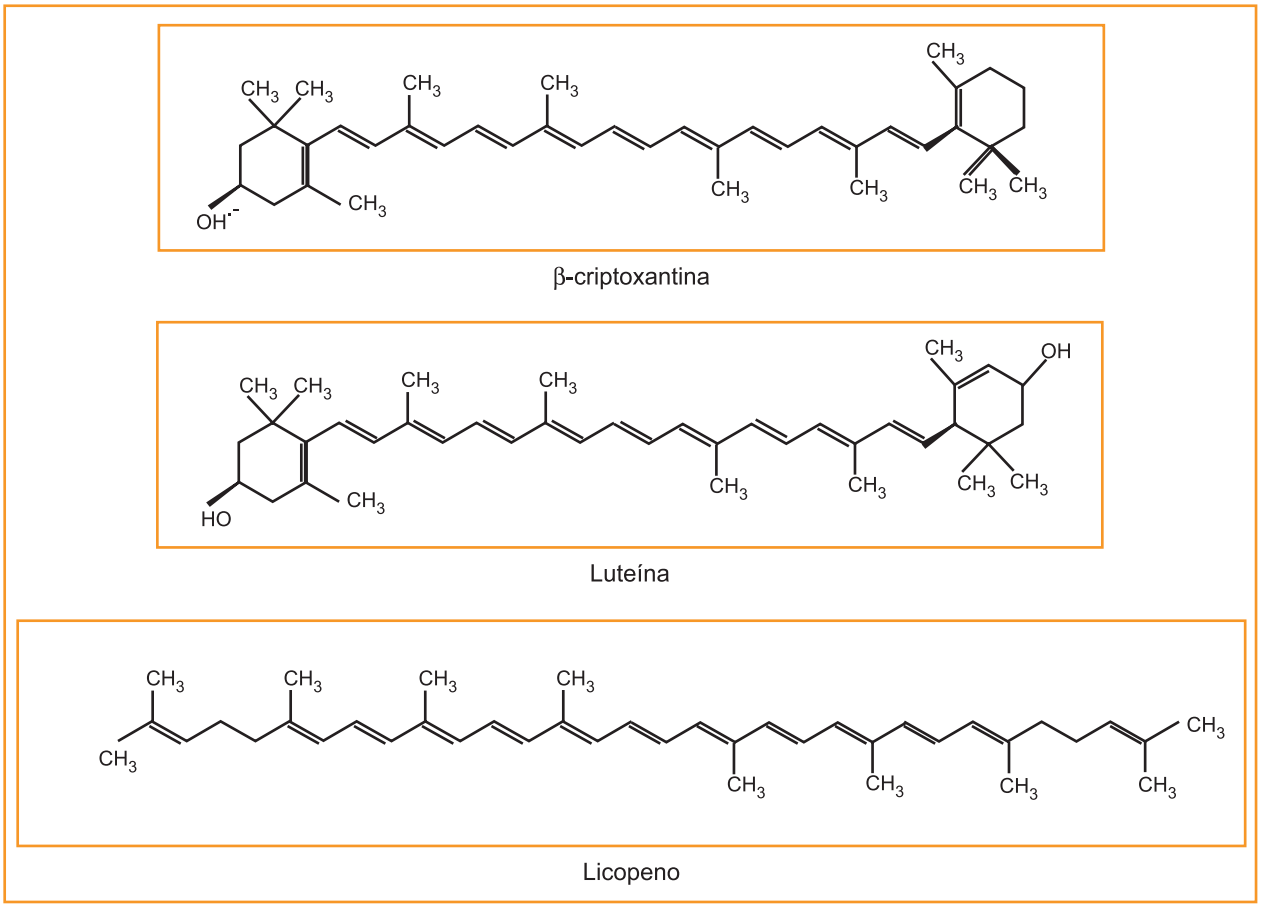


Figura 2b. *Estructuras químicas de algunos carotenoides.*

de pescado, la mantequilla, la leche, el queso, yema de huevo, algunos pescados grasos como atún y sardinas, las verduras de hoja oscura y las hortalizas muy pigmentadas. No obstante, no todos los pigmentos carotenoides muestran actividad provitamínica A. Así, algunas xantofilas como la luteína, zeaxantina, cantaxantina y equineona (pigmentos amarillos asociados con clorofila) y el licopeno (pigmento rojo del tomate) no presentan dicha actividad, aunque sí ejercen otras funciones fisiológicas **(Tabla 1)**.

Además del aporte de vitamina A, a partir del contenido de forma natural en los alimentos, en numerosos países se enriquecen los productos lácteos y las margarinas con ésteres de retinol, constituyendo de este modo una fuente importante de la vitamina.

Para cuantificar el contenido en vitamina A de los alimentos, debido a la variedad del origen de la vitamina A, se utilizan medidas estandarizadas empleándose para ello dos sistemas: las unidades internacionales y los equivalentes de retinol.

Los equivalentes de retinol que aportan una dieta son calculados sumando el retinol procedente de la vitamina A preformada y los equivalentes de retinol de los carotenoides con actividad provitamínica A **(Tabla 2)**.

4.1. Biodisponibilidad de la vitamina A

La ingesta total no sólo depende del contenido de la vitamina en los alimentos, sino también de la biodisponibilidad y bioconversión de la misma, lo que depende entre otros factores de la ingesta de grasa y la capacidad de absorción del intestino.

La biodisponibilidad de la vitamina A mejora en presencia de vitamina E y otros antioxidantes. Asimismo, la cocción moderada incrementa la bio-

Tabla 1. CONTENIDO EN VITAMINA A DE ALGUNOS ALIMENTOS

Alimento	Vitamina A* (µg EqR/100 mg porción comestible)
Hígado	13.540
Foie-gras y patés	8.300
Zanahoria	1.333
Grelos y nabizas	1.000
Anguila y angula	1.000
Espinacas	942
Margarina	900
Mantequilla	828
Boniato y batata	667
Nata	500
Congrio, pez espada	500
Queso gallego	420
Queso manchego curado	357
Acelgas	338
Tomate al natural	333
Queso en porciones	321
Queso de bola, cabrales, roquefort	300-305
Queso manchego semicurado	288
Caqui	267
Albaricoque	250
Almejas, chirlas, berberechos, similares	230
Melón	223
Queso manchego fresco	218
Tomate	207
Mango	201
Pasteles, otros dulces	190
Lechuga, escarola, puerro	167
Ciruelas secas	163
Quesos gruyere y emmental	159
Bollos	150
Riñones	150
Huevos de gallina	140
Huevas frescas	140
Guayaba	119
Fruta de la pasión	109
Melocotón	105
Empanadillas	96
Pimientos	94
Calabaza, calabacín	90
Ostras	88
Espárragos	83
Arenque	83
Mayonesa comercial	80
Croquetas	76
Calamares, similares, pulpo	70
Judías verdes	67
Sardinas	64
Soja	63
Atún fresco, bonito, caballa, conservas en aceite	60
Sardinas (conservas en escabeche)	58
Mejillones	54
Guisantes verdes	50
Sardinas (conservas en aceite)	50
Atún, bonito, caballa (conservas en escabeche)	50

Fuente: Anexo I: Alimentos con mayor contenido en cada uno de los nutrientes. En: Requejo AM, Ortega RM (eds.). Nutriguía. Editorial Complutense. Madrid, 2000: 390.

Tabla 2. EQUIVALENCIAS Y UNIDADES DE VITAMINA A

1 unidad internacional (UI)	= 0,3 µg retinol = 0,344 µg acetato de retinilo = 0,55 µg palmitato de retinilo = 0,6 µg β-caroteno = 1,2 µg otros carotenoides con actividad provitamínica A
1 equivalente de retinol (EqR)	= 1 µg retinol = 6 µg β-caroteno = 12 µg otros carotenoides con actividad provitamínica A = 3,33 UI de actividad vitamínica A de retinol = 10 UI de actividad vitamínica A de β-caroteno

disponibilidad de los carotenoides, ya que destruye su asociación a la proteína a la que inicialmente están unidos. Además, en los alimentos ricos en fibra, el cocinado mejora la absorción de los carotenoides.

Por otro lado, algunos estudios demuestran que el β-caroteno está menos biodisponible en las verduras crudas de hoja verde oscura que en las frutas.

El procesamiento inadecuado de los alimentos también puede producir pérdidas vitamínicas, ya que la vitamina A se destruye a temperaturas moderadas en presencia de oxígeno, de elementos de transición como el hierro férrico y el cobre cúprico, que favorecen su oxidación, así como en pH ácido. La degradación oxidativa se debe principalmente a que los dobles enlaces de la vitamina A preformada, así como de los carotenoides, son muy susceptibles a la oxidación. Además, la deshidratación reduce el caroteno presente en zanahorias, brócoli y espinacas, principalmente debido a que este proceso favorece los procesos oxidativos durante el almacenamiento. El enlatado de las verduras, por su parte, puede provocar la conversión de todo-*trans*-carotenoides en sus isómeros *cis*, que poseen una menor actividad biológica.

Por otra parte, el consumo prolongado y excesivo de alcohol, además de disminuir la ingesta de retinoides y carotenoides, acelera el catabolismo del retinol por inducción de las enzimas encargadas de su degradación. Además, se puede producir una competición entre el etanol y los precursores del ácido retinoico, pues tanto aquél como éstos son moléculas alcohólicas que utilizan rutas enzimáticas similares.

5. Absorción, distribución, metabolismo, almacenamiento y eliminación

Los principales procesos de absorción, distribución, metabolismo (incluida la metabolización implicada en el proceso visual), almacenamiento y eliminación se resumen en la **Figura 3**.

5.1. Absorción

La absorción de vitámeros y provitaminas A requiere de su digestión inicial. Así, estas moléculas en el estómago e intestino por la acción de enzimas proteolíticas gastrointestinales son liberadas de las proteínas a las que estaban unidas.

A su vez, en el intestino delgado los ésteres de retinol son hidrolizados a retinol por las estearasas pancreáticas y las lipasas, para cuya activación se necesitan las sales biliares, que también intervienen en la emulsificación de los lípidos y la formación de las micelas implicadas en el proceso de absorción de la vitamina.

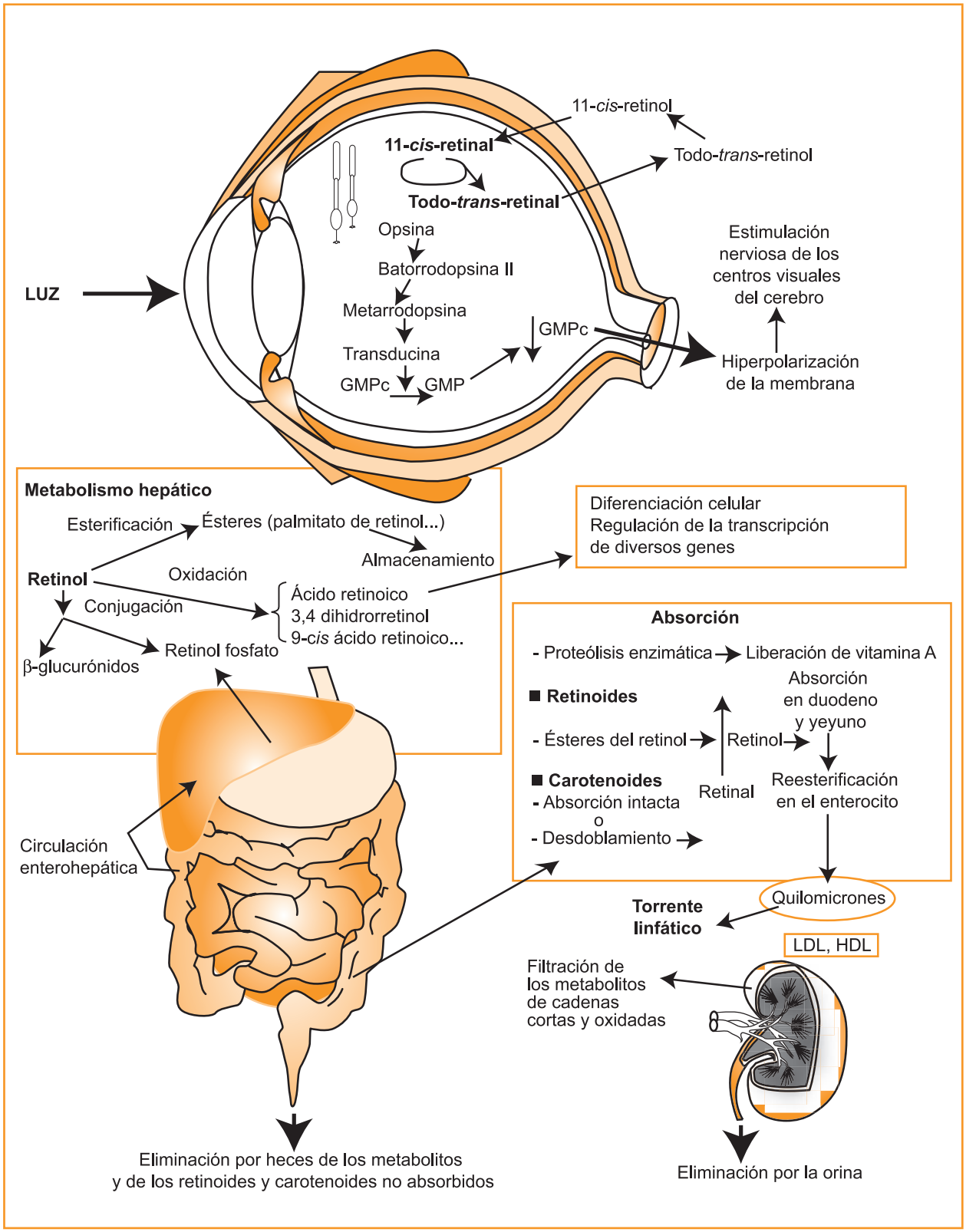


Figura 3. *Vitamina A en el organismo.*

De este modo, el retinol en forma libre se absorbe de forma más eficiente que los ésteres, siendo absorbido en duodeno y yeyuno, principalmente por difusión facilitada a partir de la fase micelar, así como por transporte activo mediante la proteína celular fijadora del retinol tipo II (CRBP-II) presente en los enterocitos del intestino y que transporta el retinol a través de la superficie del aparato de Golgi.

Por otra parte, y también en el intestino delgado, los carotenoides pueden absorberse intactos o bien son desdoblados enzimáticamente en moléculas de retinol por la acción de las dioxigenasas dentro de la célula de la mucosa intestinal. Posteriormente, estos compuestos son reducidos a retinol mediante una retinaldehído reductasa.

Una vez en el interior del enterocito, por medio de la enzima lecitín-retinol acetil transferasa (LRAT), contenida en los microsomas, las moléculas de retinol son reesterificadas a ésteres de retinilo con ácidos grasos de cadena larga que, en función de la composición grasa de la dieta, pueden ser ácido palmítico, esteárico y oleico. Estos ésteres de palmitato, estearato y oleato de retinilo, junto con otros lípidos de la dieta, son incorporados a los quilomicrones, que serán secretados posteriormente en la circulación general vía linfática, o bien se almacenarán en los hepatocitos.

La eficacia de esta absorción no es muy alta, estimándose que se absorben del 80 al 95% de los ésteres de retinil ingeridos y sólo de un 40% al 60% del β-caroteno ingerido. La fracción de vitamina A no absorbida, que oscila entre un 10% y un 20%, se elimina por heces.

Además, esta absorción puede verse afectada por otros factores alimentarios, como la cantidad y tipo de grasa, que vía colecistokinina estimula la secreción de sales biliares; la cantidad y calidad de la proteína, debido a que una suficiente cantidad de proteína de alta calidad favorece la conversión de carotenos a retinol, además de estimular también la secreción de sales biliares; y la digestibilidad de las proteínas unidas a los carotenoides en los alimentos. Asimismo, la presencia de antioxidantes como el α-tocoferol y la lecitina, al disminuir la oxidación de los carotenoides, contribuyen a mejorar la absorción.

La absorción de esta vitamina se ve empeorada con la presencia de aceites minerales en el tracto intestinal, que son utilizados a veces como laxantes, ya que dichos aceites no pueden ser absorbidos y además arrastran consigo la vitamina, haciendo que se excrete en heces. Los parásitos intestinales también impiden la absorción de la vitamina A.

5.2. Distribución

Dentro de la célula intestinal, los quilomicrones recién formados contienen ésteres de retinol, retinol en forma libre, y algunos carotenoides que no han sido hidrolizados previamente, además de ésteres de colesterol, fosfolípidos, triglicéridos y apolipoproteínas. Dichos quilomicrones son liberados al torrente linfático alcanzando así la vía sanguínea. Por otra parte, algún retinol no esterificado y ácidos retinoicos pueden ser transportados al hígado vía circulación portal.

Durante el transporte y la distribución de los quilomicrones desde la linfa a los tejidos periféricos, se produce una metabolización inicial de los mismos hidrolizándose los triglicéridos contenidos en los quilomicrones, dando lugar a la formación de los quilomicrones remanentes. Estas partículas remanentes vehiculizan los ésteres de retinol hacia el hígado y otros tejidos como médula ósea y bazo, y en menor medida a los testículos, pulmones, riñón, grasas y músculo esquelético, aunque a nivel hepático es donde se produce en mayor medida el almacenamiento de los ésteres de retinol.

Los carotenoides no metabolizados en la mucosa intestinal son transportados en los quilomicrones vía linfática al hígado, donde son transferidos a lipoproteínas. Los carotenoides más hidrocarbonados son transportados principalmente por las lipoproteínas de baja densidad (LDL), mientras que los más polares lo hacen tanto en las LDL como en las lipoproteínas de alta densidad (HDL). El β-caroteno permanece en gran medida en los quilomicrones remanentes, siendo internalizado en el hígado y secretado posteriormente en las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).

Para que la vitamina A pueda circular por el torrente sanguíneo y, de este modo, pueda acceder a todos los tejidos y cubrir los requerimientos de los mismos, es necesario que se transporte unida a una proteína específica. Así, antes de la secreción de la vitamina A a la circulación general

Tabla 3. PROTEÍNAS FIJADORAS DE VITAMINA A

Proteína fijadora
Proteína fijadora de retinol (RBP)
Proteína celular fijadora de retinol (CRBP)
Proteína celular fijadora de retinol tipo II (CRBP)
Proteína celular fijadora de retinal (CRALBP)
Proteína celular fijadora de ácido retinoico (CRABP)
Proteína fijadora de retinol interfotorreceptor (IRBP)
Receptores nucleares α, β y γ de ácido retinoico (RAR-α, β y γ)
Receptores α, β y γ retinoico X (RXR-α, β y γ)

por el hígado, en el interior del hepatocito el todo-*trans*-retinol se une a la proteína transportadora de retinol (apo-RBP), formando el complejo holo-RBP (retinol-RBP) en proporción 1:1 equimolar y de esta forma es secretado al plasma.

Este complejo a su vez se une con la transtirretina plasmática (prealbúmina) también en proporción 1:1. La formación de este último complejo minimiza las pérdidas renales de holo-RBP por filtración glomerular y aumenta la estabilidad del retinol.

En condiciones normales, el complejo holo-RBP (retinol-RBP) supone aproximadamente el 99% de todos los retinoides presentes en sangre. Sin embargo, tras la ingestión de una comida rica en vitamina A, la mayor parte del retinol circulante se encuentra en forma de ésteres en los quilomicrones y quilomicrones remanentes.

Además, los niveles del complejo holo-RBP suelen mantenerse bastante constantes, excepto en los casos en los que el estatus en vitamina A es deficitario o en ciertas enfermedades. Cuando la disponibilidad de la vitamina a partir de la dieta es insuficiente, la RBP es capaz de movilizar retinol a partir de los depósitos de vitamina A en el hígado, para así cubrir las necesidades de las células y tejidos. No obstante, si los depósitos hepáticos también están deplecionados, el holo-RBP en sangre disminuye, comprometiéndose la funcionalidad de numerosos tejidos.

El transporte de retinol puede verse influido negativamente por la disminución de la ingesta principalmente proteica, por un disbalance hormonal (ya que la secreción de RBP desde el hígado está regulada en parte por los estrógenos), así como por enfermedades del intestino, hígado o riñón, que disminuyen la absorción, el metabolismo o síntesis de RBP y transtirretina.

Este retinol transportado, además de ir a los tejidos diana, también es reciclado de nuevo por el hígado, siendo de este modo la pérdidas escasas.

En cuanto al ácido retinoico, éste no es tranportado por la RBP, sino que lo hace unido a la albúmina y a otras proteínas.

El complejo holo-RBP interacciona con los receptores superficiales de las células de los tejidos diana siendo internalizado por endocitosis. Dentro de la célula el retinol es liberado y se une a proteínas transportadoras celulares específicas como la CRBP (proteína celular fijadora de retinol) específica del retinol, la CRABP, específica del ácido retinoico, la CRALBP, específica del retinal, y la proteína fijadora de retinol interfotorreceptor (IRBP), a nivel ocular. Los niveles de estas proteínas en los tejidos están influenciados por la situación nutricional en vitamina A, ya que los genes que codifican dichas proteínas son inducidos por la vitamina A de la dieta **(Tabla 3)**.

5.3. Metabolismo

La vitamina A es ampliamente metabolizada en diversos lugares del organismo. Las principales reacciones metabólicas comprenden la esterificación, oxidación a C-15, oxidación a C-4, conjugación, fosforilación, isomerización y excisión de las cadenas. Dado que todos estos procesos están

relacionados con las funciones metabólicas de la vitamina A, algunos de ellos se tratarán con más detalle al hablar de dichas funciones en el siguiente apartado.

5.3.1. Esterificación

El retinol es esterificado en las células intestinales y en otros tejidos por las enzimas del retículo endoplasmático, las cuales utilizan los grupos acilos de la fosfatidilcolina o del acetil-CoA. Estos sistemas presentan una marcada especificidad por los ácidos grasos saturados y sobre todo por el ácido palmítico, por lo que el producto más abundante que se produce es el palmitato de retinol.

5.3.2. Conjugación

El retinol puede ser conjugado por dos posibles vías. La más importante es su reacción, que se produce principalmente en el hígado, con el ácido UDP-glucurónico para formar β-glucurónidos que posteriormente son secretados con la bilis al intestino, reabsorbidos en el lumen intestinal y transportados de nuevo al hígado vía porta. Este proceso constituye la circulación enterohepática de la vitamina, que contribuye al mantenimiento de sus niveles, salvo en casos de malabsorción, en cuyo caso los metabolitos se perderían, siendo la concentración de metabolitos de vitamina A en la bilis directamente proporcional al grado de depleción de los depósitos hepáticos.

La otra vía de formación de conjugados es un proceso de fosforilación ATP-dependiente, que da lugar al retinol fosfato, aunque no está clara su importancia biológica, ya que se forma en muy baja cantidad.

5.3.3. Oxidación

Dentro del citoplasma, el retinol puede ser oxidado a ácido retinoico y otros compuestos como el 3,4 deshidrorretinol y 9-*cis* ácido retinoico. A su vez, tanto el ácido retinoico como el resto de metabolitos, y el propio retinol, pueden ser metabolizados a formas más polares mediante la oxidación de su anillo β-ionona. Los compuestos formados pueden sufrir también una conjugación dando lugar a retinol glucurónidos.

Por otro lado, la oxidación de retinol a retinal requiere de la presencia del coenzima NAD^+, siendo esta reacción reversible. Sin embargo, la oxidación de retinal a ácido retinoico es irreversible.

5.3.4. Isomerización

La interconversión de las formas todo-*trans* de la vitamina A en las formas *cis* ocurre en el ojo y es un aspecto fundamental de la función visual, ya que este cambio conformacional causado por la isomerización varía la afinidad en la unión del retinal al pigmento visual opsina. En el ojo, la luz induce la conversión del 11-*cis*-retinal a todo-*trans*-retinal por la enzima retinal isomerasa. La conversión de nuevo a la forma 11-*cis* es catalizada también por la misma enzima **(Figura 3)**.

5.3.5. Hidrólisis

Los ésteres de retinilo almacenados son hidrolizados por un grupo de hidrolasas intracelulares, algunas de las cuales son dependientes de las sales biliares.

Las proteínas celulares fijadoras de retinol juegan un papel importante en la modulación de los procesos metabólicos de oxidación/reducción y transesterificación del retinol, ya que en función de las necesidades y reservas de la vitamina pueden hacer que el retinol permanezca inaccesible, protegiéndolo de los procesos metabólicos, o bien favorecer dichos procesos mediante la interacción proteína-proteína con las enzimas implicadas.

La mayoría de los carotenoides son metabolizados por una 15,15'-dioxigenasa en el citosol de la mucosa intestinal, de hepatocitos y de otros tejidos. El β-caroteno da lugar a dos moléculas de retinol, que es reducido y esterificado a éster retinilo. Estos procesos requieren de oxígeno molecular y metales como el hierro que actúa como catalizador de la reacción.

El retinol, retinal y otros metabolitos formados poseen actividad biológica. El ácido retinoico y su glucurónido participan en el crecimiento celular pero no en el ciclo visual ni en la reproducción. A excepción del ácido 14-hidroxirretinoico, los

productos más oxidados, como el ácido 4-hidroxirretinoico, 5,6-epoxirretinoico y metabolitos C-19, carecen de actividad biológica.

5.4. Almacenamiento

El almacenamiento de esta vitamina se produce principalmente a nivel del hígado, aunque también se almacena en pequeñas cantidades en los pulmones, riñones y en la grasa corporal. La mayor parte del β-caroteno que se acumula lo hace en los adipocitos, lo cual hace que en los seres humanos las capas del tejido graso presenten una coloración amarillenta.

En las células parenquimatosas del hígado, los quilomicrones remanentes son degradados por enzimas lisosomales. El retinol puede ser transferido desde estas células a las células estrelladas, donde es reesterificado, por la enzima microsomal lecitín:retinol acetil transferasa (LRAT), que también está presente en otros tejidos en los que el retinol sufre procesos metabólicos.

La velocidad con la que se produce el almacenamiento de la vitamina A depende del estatus en la misma. Así, por ejemplo, cuando los niveles son adecuados, la vitamina ingerida en unas pocas horas es transferida a las células estrelladas, las cuales, como ya se ha indicado, constituyen la principal reserva. Sin embargo, en los casos de deficiencia en vitamina A, la vitamina tiende a liberarse al plasma y distribuirse por los tejidos, más que a almacenarse.

De este modo, el hígado es el principal depósito de la vitamina A, en el cual se encuentra el 50-80% del total del organismo, aproximadamente un 90% en las células estrelladas. La mayor parte de esta vitamina se encuentra esterificada en cadenas largas de retinol, siendo la forma predominante el palmitato de retinol.

La cantidad de vitamina A tiende a incrementarse con la edad y dependiendo de la cantidad ingerida y absorbida a partir de la dieta. Este aumento en los tejidos, principalmente en el vascular, de vitamina A, puede formar parte de un proceso auto-regulado por parte del organismo para contrarrestar los efectos oxidativos debidos al envejecimiento.

Se estima que los adultos sanos pueden almacenar suficiente vitamina A para cubrir las necesidades de 4 a 12 meses. No obstante, en los niños estas reservas son mucho menores, por lo que son más susceptibles de sufrir deficiencias.

En cuanto a la vitamina A presente en la leche materna y en los fluidos, las concentraciones son mayores en el calostro que en la leche madura, mientras que en el líquido amniótico los niveles de retinol son casi 10 veces más bajos que los del plasma.

5.5. Eliminación

Aproximadamente un 5-20% de los retinoides ingeridos y un mayor porcentaje de los carotenoides, dependiendo de su naturaleza, biodisponibilidad y cantidad, no son absorbidos por el tracto intestinal y son excretados en heces intactos.

Un 10-40% de la vitamina absorbida es oxidada y/o conjugada en el hígado, siendo secretada con la bilis y, a pesar de que un 30% de los metabolitos biliares son reabsorbidos y transportados de nuevo al hígado por medio de la circulación enterohepática, la mayoría son excretados en heces junto a la vitamina A no absorbida a partir de la dieta.

En general, los metabolitos cuyas cadenas de carbono han permanecido intactas se excretan por heces, mientras que las formas de cadenas acortadas y oxidadas son eliminadas por la orina, aunque cuantitativamente la excreción es mayor por heces que por vía urinaria.

La cantidad de metabolitos de vitamina A que se eliminan por heces y orina depende de la ingesta, así como de las reservas hepáticas de la vitamina.

Por su parte, el dióxido de carbono producido durante la oxidación y escisión de las cadenas es eliminado en el aire espirado.

En términos cuantitativos, de la vitamina A ingerida a partir de la dieta, un 10% no es absorbida, un 20% aparece en heces vía biliar, un 17% se excreta por orina, el 36% aparece como dióxido de carbono y el 50% es almacenada principalmente en el hígado **(Figura 3)**.

6. Funciones

Cada una de las formas funcionales de la vitamina A presenta diversas funciones. Así, el retinol participa principalmente en la reproducción, el

retinal en la visión y el ácido retinoico en la diferenciación epitelial, y la reproducción, a través de la regulación de la expresión génica.

6.1. Visión

En el proceso visual está implicado el retinal, el cual se forma a partir del retinol circulante, que es incorporado en la retina principalmente mediante el reconocimiento específico, por medio de los receptores de la retina, de la RBP a la que está unido el retinol.

El 11-*cis*-retinal actúa como grupo prostético cromóforo fotosensitivo de los pigmentos visuales de los conos y los bastones localizados en la retina. A estos pigmentos se les denomina de forma colectiva opsinas, y están localizados en segmentos externos altamente especializados de los conos y los bastones. Los bastones contienen el pigmento rodopsina y son los responsables de la visión nocturna o la carente de colores, mientras que los conos pueden contener uno de los tres pigmentos fotosensibles denominados iodopsinas y actúan en la visión diurna o con colores.

En ambos casos, el 11-*cis*-retinal se une de forma covalente mediante la formación de una base de Schiff a un residuo específico de lisina de la correspondiente opsina, localizado en uno de los segmentos transmembrana de estas células.

Las funciones visuales de la rodopsina y las iodopsinas difieren solamente en cuanto a sus propiedades del espectro de absorción de la luz que depende de la opsina que esté implicada. La absorbancia máxima de los pigmentos de la retina en humanos es de 498 nm para la rodopsina, 420 nm para la iodopsina de los conos azules, 534 nm para la iodopsina de los conos verdes y 563 nm para la iodopsina de los conos rojos.

La fotorrecepción, y por tanto el proceso visual, comienza en la retina cuando la luz es absorbida por los pigmentos visuales. La captura de un solo fotón provoca la fotoisomerización del 11-*cis*-retinal a la forma todo-*trans*-retinal. Esto conduce a la disociación del todo-*trans*-retinal de la opsina, lo cual conlleva la progresión del pigmento a través de una serie de sustancias inestables intermedias (batorrodopsina, lumino-rrodopsina y metarrodopsina I) y finalmente a metarrodopsina II.

La metarrodopsina II interacciona con la transducina, una proteína G de membrana heterotrimérica ($T\alpha + \beta + \gamma$) que a su vez activa GMPc fosfodiesterasas que catalizan la hidrólisis del GMPc a GMP produciéndose una disminución en los niveles de GMPc. Esta disminución conlleva una caída en el flujo de iones Na^+, debido al cierre de los canales de dicho ión ya que el GMPc mantenía dichos canales de las membranas de las fotocélulas abiertos.

De este modo, se produce una hiperpolarización de la membrana, lo cual desencadena la estimulación nerviosa de los centros visuales del cerebro a través de la terminación sináptica de los bastones y los conos, según qué células estén implicadas en la visión en función de si la visión es nocturna o diurna.

Al pasar a un ambiente en oscuridad, se producen una serie de procesos que llevan a la inactivación de la cascada de transducción y a la reiniciación de la sensibilidad de las células fotorreceptoras. La enzima rodopsina kinasa fosforila la rodopsina en el carbono terminal de los residuos de serina y treonina. Las arrestinas, una familia de proteínas moduladoras presentes en conos y bastones, se unen a la rodopsina fosforilada, impidiendo que continúe la activación de la transducina.

Finalmente, se produce la hidrólisis de la base de Schiff formada y se libera el todo-*trans*-retinal de la opsina. La proteína RGS9 estimula la actividad intrínseca GTPasa de la transducina y los complejos inactivos tanto de la transducina como de la fosfodiesterasa de GMPc son reactivados. Los niveles citoplasmáticos de GMPc son restaurados mediante la activación de guanilatociclasas específicas de los fotorreceptores.

Este proceso visual es cíclico y la regeneración de los pigmentos visuales conlleva que el todo-*trans*-retinal, tras su liberación de la opsina, sea reducido enzimáticamente a todo-*trans*-retinol y transportado al epitelio pigmentado de la retina. Dentro de este epitelio, el todo-*trans*-retinol es isomerizado a 11-*cis*-retinol, el cual es oxidado a 11-*trans*-retinol y, posteriormente, de dicho epitelio se transfiere a la opsina, pudiendo ser almacenado en forma de ésteres de retinol en la capa pigmentada de los bastones, para poder ser posteriormente utilizado de nuevo en el proceso de la visión.

En condiciones normales la tasa de degradación de la rodopsina por la luz es igualada por la velocidad de regeneración y el aporte de vitamina A a partir de los almacenes o del plasma.

6.2. Diferenciación de células epiteliales

Tanto el retinol, como el retinal y el ácido retinoico son activos en la diferenciación del tejido epitelial y producción de mucus, aunque el más activo de los tres es el ácido retinoico.

Uno de los posibles mecanismos que explica la actuación de la vitamina A a este nivel es mediante la regulación de la expresión génica. En el interior de la célula, el todo-*trans*-retinol unido a la CRBP puede ser oxidado a ácido todo-*trans*-retinoico y también puede ser isomerizado a 9-*cis*-retinol y a su vez oxidado a ácido 9-*cis* retinoico.

Tanto el ácido todo-*trans* como el 9-*cis* retinoico son formas activas del ácido retinoico y son transportados por la CRABP, u otra proteína transportadora de retinol, al núcleo celular donde se une a receptores específicos, similares a los receptores nucleares de hormonas esteroideas como la 1,25 $(OH)_2$-vitamina D_3 y las hormonas tiroideas. Se han identificado dos familias de receptores específicos retinoicos nucleares, los RAR (receptores de ácido retinoico) y RXR (receptores retinoico X), existiendo para ambos varias variantes.

El primer receptor del ácido retinoico de procedencia humana (RAR-α) fue aislado en 1987 y se demostró que la transcripción de determinados genes se veía activada tras la unión del ácido todo-*trans* retinoico a este receptor. Poco después se aislaron los receptores RAR-β y RAR-γ, a los que también se une el ácido todo-*trans* retinoico. Una segunda clase de receptores, los receptores X (RXR-α, RXR-β y RXR-γ), fueron aislados en 1990. Estos receptores reconocen y unen el ácido todo-*trans* retinoico así como el ácido 9-*cis* retinoico.

Tanto los receptores RAR como los RXR tienen múltiples isoformas y son expresados en diferentes células según los estados de desarrollo, diferenciación u otras circunstancias en las que está implicado el ácido retinoico. Además, los RXR pueden formar heterodímeros con una gran variedad de receptores. Todas estas posibles interacciones están relacionadas con los efectos pleiotróficos de los retinoides, los cuales regulan de este modo la expresión de numerosos genes implicados en muchos procesos fisiológicos. La transcripción de determinados genes da lugar a las correspondientes moléculas de RNAm que codifican proteínas celulares implicadas en la diferenciación de las células epiteliales. Además, este mecanismo también está implicado en la estimulación de la producción de mucus por dichas células. No obstante, algunos retinoides pueden estimular la diferenciación por otros mecanismos distintos, aunque dichos procesos no están del todo claros.

6.3. Crecimiento

La vitamina A interviene en la formación y el crecimiento de las células por lo que es esencial para el crecimiento de los niños. Esta vitamina es necesaria para el correcto crecimiento y desarrollo ya que el ácido retinoico puede estimular la expresión de los genes que codifican para la hormona del crecimiento. En este sentido, en algunos estudios realizados en niños, se observa una disminución en la secreción nocturna de hormona del crecimiento en aquellos con baja ingesta de vitamina A.

6.4. Metabolismo óseo

En el crecimiento óseo la vitamina A es esencial para la correcta actividad de las células del cartílago epipisario, mediante su efecto sobre la síntesis de proteínas y la diferenciación celular ósea. Además, esta vitamina durante el remodelado óseo modula la actividad de los osteoclastos y osteoblastos.

En este papel, así como en la diferenciación celular y el crecimiento, la función de la vitamina A se asemeja a la de una hormona mediante la regulación de genes específicos.

No obstante, a pesar del papel fundamental de la vitamina A en la salud ósea, la ingesta excesiva se ha asociado con desmineralización ósea y una mayor incidencia de fracturas osteoporóticas.

6.5. Desarrollo dentario

La vitamina A también es necesaria para el desarrollo normal de las células epiteliales que forman

el esmalte de los dientes. Además, esta vitamina puede estimular la expresión de la proteína fijadora de calcio calbindina D28k, que juega un importante papel en la homeostasis y cito-protección de los fibroblastos del ligamento periodontal.

6.6. Reproducción

La vitamina A tiene un efecto directo sobre la espermatogénesis. El ácido retinoico mantiene la síntesis de testosterona en las células intersticiales de Leydig y el retinol o análogos conservan el epitelio de las vesículas seminales.

También participa en el ciclo menstrual, desarrollo de la placenta y producción de progesterona.

6.7. Embriogénesis

El ácido todo-*trans*-retinol controla el desarrollo embrionario ya que induce la diferenciación de un grupo de células que producen señales para las células cercanas a ellas causando la diferenciación específica o la migración en una dirección dada durante la morfogénesis. Estos procesos incluyen el establecimiento de una polaridad axial en respuesta a móleculas señal como el ácido retinoico.

Los receptores RAR y RXR están implicados en la morfogénesis. Así, la expresión de los subtipos e isoformas de receptores RAR y RXR en las diferentes etapas y regiones de la morfogénesis condiciona el fenotipo de la futura célula diferenciada. Numerosos estudios ponen de manifiesto que la expresión de los receptores RAR-α y RXR-β se produce de forma masiva, mientras que el resto de receptores se expresan solamente en tejidos específicos y en periodos concretos del desarrollo embrionario.

Además, el ácido retinoico puede inducir la muerte celular programada o apoptosis, fenómeno necesario para una correcta embriogénesis, pero que debe ser regulado para evitar posibles procesos teratogénicos.

6.8. Hematopoyesis

Los retinoides están implicados en la diferenciación de las células mieloides a neutrófilos. Además, esta vitamina es necesaria para la reutilización de los depósitos de hierro en el bazo y el hueso en la eritropoyesis. Asimismo, la vitamina A interviene en la síntesis de transferrina que permite el transporte del hierro.

6.9. Vitamina A como coenzima

Los retinoides, actuando como portadores de azúcares, y mediante la síntesis intracelular del manosil retinil fosfato, participan en la síntesis de glicoproteínas de membrana celulares que están implicadas en los procesos de adhesión celular, interacción con hormonas y comunicación intercelular. Así, la vitamina A es fundamental en el mantenimiento de las paredes del estómago e intestino, el funcionamiento de las glándulas sexuales, útero y membranas del aparato urinario.

6.10. Comunicación intercelular

Además de su participación en la síntesis de glicoproteínas, los retinoides, y en mayor proporción los carotenoides, favorecen la comunicación intercelular mediante la inducción de la síntesis de la conexina 43, una proteína de unión *gap*, que puede ser de interés en la supresión del crecimiento neoplásico.

6.11. Acción anticancerígena

La vitamina A, tanto en forma de retinoides como de carotenoides, tiene un papel protector frente a diversos tipos de cáncer, principalmente de pulmón, próstata, mama, vejiga y piel.

Este papel de la vitamina A puede ser debido a sus efectos en el mantenimiento de la integridad de los epitelios, su papel en la inmunidad, su acción en la diferenciación celular, su actuación en la comunicación intercelular, regulación de la apoptosis y a sus propiedades antioxidantes, ya que secuestra radicales libres y especies reactivas de oxígeno que podrían dañar las membranas celulares y provocar mutaciones génicas.

Diversos estudios han relacionado la ingesta de frutas y verduras con un menor riesgo de padecer cáncer, pudiendo atribuirse a la acción de la

vitamina A presente en ella, pero también a otros componentes presentes en estos alimentos o bien a la sustitución de carnes y grasas en la dieta.

No obstante, diversos estudios de poblaciones han puesto de manifiesto que la suplementación con β-caroteno en fumadores incrementa la aparición de cáncer de pulmón, principalmente para aquellos que fuman más de 20 cigarrillos por día y además consumen alcohol de forma regular.

En lo referente al cáncer de próstata, no todos los estudios han encontrado una relación directa entre el β-caroteno y una menor incidencia de este tipo de cáncer. Aun así, este efecto protector del cáncer de próstata sí que ha sido demostrado para el carotenoide licopeno, que no presenta actividad provitamínica A. El licopeno se acumula en cantidades importantes en el tejido prostático, reduciendo el riesgo de cáncer en esta localización. Este compuesto es un carotenoide acíclico que contiene 11 dobles enlaces conjugados normalmente en configuración todo-*trans*, y es capaz de reaccionar con radicales de oxígeno y varios radicales en forma de cationes. Además, el licopeno induce las uniones *gap* que median la comunicación entre las células, lo cual puede estar relacionado con su protección frente al desarrollo del cáncer.

Por otra parte, otros carotenoides como el α-caroteno y la luteína pueden reducir la actividad del citocromo P450 1AA, un activador de procarcinógenos. Además, la β-criptoxantina puede estimular la supresión del gen *Rb*, un gen supresor de tumores, y del *p73*, un gen relacionado con el *p53*, que también es un gen supresor de tumores siendo una de sus funciones inducir la apoptosis.

6.12. Antioxidante

Tanto los retinoides como los carotenoides pueden actuar como antioxidantes, aunque los carotenoides son más activos debido a que el sistema de dobles enlaces conjugados es más largo. Ambos pueden reaccionar en las membranas lipídicas con las especies oxígeno reactivas eliminando radicales libres y disminuyendo la peroxidación lipídica. Los carotenoides presentan una mayor efectividad como antioxidantes a bajas presiones de oxígeno.

El β-caroteno, además, puede actuar sinérgicamente con otros antioxidantes como el α-tocoferol y el ácido ascórbico, lo cual aumenta su capacidad antioxidante debido a la protección que ejerce frente a la autooxidación y a la inhibición de los posibles efectos oxidantes del radical peroxilo de β-caroteno.

De este modo, diversos estudios han puesto de manifiesto que los carotenoides pueden disminuir la oxidación de las LDL, las concentraciones plasmáticas de peróxidos y la excreción urinaria de marcadores de estrés oxidativo como la 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina.

6.13. Prevención de enfermedades cardiovasculares

Diversos estudios epidemiológicos han encontrado una relación inversa entre el consumo de frutas y hortalizas con alto contenido en provitaminas A y la aparición de enfermedades cardiovasculares. Así, los niveles plasmáticos de retinol están relacionados inversamente con el riesgo de aparición de procesos isquémicos, mientras que unas bajas concentraciones de β-caroteno aumentan el riesgo de sufrir un infarto de miocardio. Este menor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares ha sido atribuido a las propiedades antioxidantes de la vitamina A, ya que disminuye la oxidación de las LDL, con la consiguiente reducción en la formación de células espumosas en el endotelio vascular. Además, el β-caroteno contenido en las LDL puede eliminar especies reactivas de oxígeno de estas lipoproteínas.

El licopeno, que como ya se ha indicado no tiene actividad provitamínica A, también puede intervenir en la prevención de enfermedades cardiovasculares, posiblemente debido a sus propiedades antioxidantes, evitando la oxidación de las lipoproteínas.

Por otro lado, y del mismo modo que ocurre en la prevención del cáncer, esta acción anticancerígena, también puede deberse a otros componentes presentes en las frutas y verduras.

6.14. Inmunidad

La vitamina A juega un papel primordial en la respuesta inmune. El retinol puede actuar como un factor de crecimiento específico para los linfocitos B. Además, contribuye a la producción de linfocitos T

(CD3 y CD4 pero no CD8), aumento en el número y actividad de las células NK (***N**atural **K**iller*), favorece la respuesta de los linfocitos a las fitohemaglutininas, incrementa la producción de interleucina 2 y la expresión de su receptor, y mejora la respuesta de los anticuerpos ante determinadas infecciones.

Parece ser que los retinoides actúan más a nivel de la diferenciación de las células inmunitarias, incrementando la mitogénesis de linfocitos y la fagocitosis de monocitos y macrófagos, mientras que los carotenoides afectan más a la activación de las células NK y linfocitos T *helper* mediante la modificación en la liberación de citokinas.

6.15. Regulación de los depósitos de grasa corporal

La vitamina A, por su capacidad de modificar la expresión génica y la función de las células diana, puede intervenir en la regulación de los niveles y funcionalidad de la reserva grasa del organismo. El ácido retinoico actúa como activador de la transcripción de genes que codifican para proteínas acopladoras, por lo que, en animales, se ha comprobado que la capacidad termorreguladora está asociada con el estatus en vitamina A.

Además, el ácido retinoico tiene influencia sobre la diferenciación de los adipocitos, ya que se ha observado que en medios de cultivo las altas dosis de este compuesto inhiben la adipogénesis, mientras que las bajas dosis la promueven; por tanto, la deficiencia en vitamina A puede favorecer el depósito de grasa corporal.

6.16. Otras funciones

La vitamina A también actúa a nivel de las enzimas del citocromo P-450, por lo que participa en la eliminación de xenobióticos del organismo.

Por otra parte, el ácido retinoico puede inducir a transglutaminasas, necesarias para la función de los macrófagos, coagulación sanguínea, adhesión celular y en la apoptosis. También interviene en la expresión de glicosiltransferasas y lecitinas.

Además, la vitamina A juega un importante papel en la regulación de la homeostasis de la glucosa ya que afecta a la liberación tanto de la insulina como del glucagón. Asimismo, la vitamina A puede actuar sobre la transcripción de diversas enzimas implicadas en el metabolismo de la glucosa, como la glucokinasa y fosfoenlopiruvato carboxikinasa.

6.17. Acciones de otros carotenoides sin actividad provitamínica A

La luteína es uno de los carotenoides más ampliamente distribuido en las frutas y verduras que habitualmente se consumen, siendo su presencia en tejidos humanos completamente de origen alimentario.

La distribución de la luteína en los tejidos es similar a la de otros carotenoides, pero, junto con la zeaxantina, también se encuentran selectivamente en el centro de la retina, siendo usualmente denominados como pigmentos maculares. La luteína, a pesar de no presentar actividad provitamínica A ejerce importantes funciones biológicas en el organismo. Así, algunos estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto una asociación, aunque los resultados no son del todo concluyentes, entre la alta ingesta o niveles séricos de luteína y un menor riesgo en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, varios tipos de cáncer y la degeneración macular asociada con la edad. Además, se han encontrado algunas pruebas de que la suplementación con luteína puede reducir los niveles de algunos biomarcadores de estrés oxidativo y mejorar la función visual.

Por otra parte, algunos trabajos han puesto de manifiesto que la luteína y zeaxantina, y los alimentos ricos en estos carotenoides, pueden disminuir el riesgo de desarrollar cataratas. Esto se debe a su capacidad antioxidante, ya que la oxidación de las proteínas de las lentes del cristalino juega un papel importante en el desarrollo de cataratas asociadas a la edad.

En cuanto al licopeno, como ya se ha indicado anteriormente, se ha observado que ejerce un papel protector frente al cáncer de próstata y las enfermedades cardiovasculares.

7. Requerimientos

La vitamina A es un nutriente esencial que no puede ser sintetizado por el organismo, por lo

que para cubrir sus requerimientos es necesario obtenerlo a partir de la dieta en forma de vitamina A preformada o de carotenoides con actividad provitamínica A. Los requerimientos en humanos se han calculado a partir de estudios en los que se ha intentado corregir estados de deficiencia producidos experimentalmente. Las recomendaciones actuales del *Food and Nutrition Board* del *National Research Council* (1998) se basan en la cantidad necesaria para evitar las deficiencias, mantener el crecimiento adecuado en los niños y asegurar las reservas de la vitamina, más un factor de seguridad adicional para cubrir variaciones en la absorción y utilización de la vitamina.

7.1. Niños

El feto comienza a acumular vitamina A durante el tercer trimestre de gestación, y es necesario que se mantenga una ingesta adecuada durante varios meses después del nacimiento para conseguir unos niveles hepáticos de vitamina A de reserva adecuados. En niños recién nacidos los requerimientos se calculan a partir de la vitamina A aportada por la leche humana. Durante al menos los 6 primeros meses, la lactación es suficiente para proveer las cantidades de vitamina A necesarias para mantener la salud, permitir el adecuado crecimiento y almacenamiento de la vitamina en el hígado.

Así, teniendo en cuenta que el contenido medio de retinol en leche materna es de 50 µg/dl, la ingesta de 850 ml de leche materna proporciona del orden de 400 µg de equivalentes de retinol (EqR), que cubren los requerimientos del niño.

Para niños mayores de seis meses las recomendaciones se han establecido basándose en la observación de la ingesta de leche materna en poblaciones en las que la lactación materna se continúa durante más tiempo, marcándose en 375 µg EqR las ingestas recomendadas.

En niños más mayores las recomendaciones se cifran en 20-39 µg EqR por kg de peso y día.

7.2. Adultos

Se establece que la ingesta recomendada en varones y mujeres adultos normales es de 1.000 y 800 EqR por día respectivamente, suponiendo que el 50% de la vitamina en la dieta deriva del retinol y el 50% del β-caroteno. Estas cifras corresponden a unos 10-50 µg EqR por kg de peso y día. Aunque no existe ingesta recomendada para el β-caroteno, teniendo en cuenta que las recomendaciones para la vitamina A total son de 1.000 y 800 µg EqR para varones y mujeres respectivamente, esto correspondería a aproximadamente 6,0 y 4,8 mg de β-caroteno, respectivamente, en el caso de que todo el aporte de vitamina A proviniese del β-caroteno.

7.3. Embarazo y lactación

Las cifras dadas para los requerimientos de la vitamina A durante el embarazo y lactancia varían dependiendo de la región y la endemicidad de la deficiencia en vitamina A. Así, aun cuando durante el embarazo y la lactación los requerimientos aumentan para cubrir el almacenamiento fetal y la vitamina A presente en la leche materna, las RDA en Estados Unidos para embarazadas son las mismas que para mujeres adultas. De hecho, aumentar las recomendaciones podría tener efectos perjudiciales en los países en los que no existe deficiencia de la vitamina de forma endémica, por el posible riesgo de teratogenicidad de las dosis excesivas de vitamina A. En los países en los que sí existe una deficiencia endémica de vitamina A, en mujeres en edad fértil y en embarazadas es necesario valorar la relación riesgo/beneficio de la suplementación con vitamina A.

En cuanto a la lactación, en general las ingestas recomendadas durante este periodo aumentan en 500 µg EqR respecto a las ingestas recomendadas para las mujeres en edad fértil. La composición de la leche materna en vitamina A está influenciada por el estatus y concentraciones séricas de la vitamina durante el último trimestre de gestación. El calostro y la leche inicial son muy ricos en vitamina A, e incluso la leche de una mujer desnutrida puede satisfacer las necesidades del neonato durante las primeras semanas.

7.4. Ancianos

En general, los requerimientos de vitamina A en ancianos son iguales que en adultos.

Tabla 4. INGESTAS RECOMENDADAS DE VITAMINA A (μg EqR)

Edad	Población española (1994)[a]	Población española (1999)[b]	Edad	RDA ameri canas[c]	Requeri-mientos medios[d]	Ingesta recomendada segura[d]	Comunidad Europea[e]	Reino Unido[f]
Niños y niñas			**Niños y niñas**					
0,0-0,5	450	375	0,0-0,5	375	180	375	-	
0,5-1,0	450	375	0,5-1,0	375	190	400	350	350
1-3	300	400	1-3	400	200	400	400-500	350
4-5	300	600	4-6	500	200	450	400-500	400
6-9	400	700	7-10	700	250	500	400-500	500
								500
Hombres			**Hombres**					
10-12	1.000	1.000	11-14	1.000	330-400	600	600	
13-15	1.000	1.000	15-18	1.000	330-400	600	700	700
16-19	1.000	1.000	19-24	1.000	300	600	700	700
20-39	1.000	1.000	25-50	1.000	300	600	700	700
40-49	1.000	1.000	51+	1.000	300	600	700	700
50-59	1.000	1.000						700
60-69	1.000	1.000						
70+	1.000	900						
Mujeres			**Mujeres**					
10-12	800	800	11-14	800	330-400	600	600	600
13-15	800	800	15-18	800	330-400	600	600	600
16-19	800	800	19-24	800	270	500	600	600
20-39	800	800	25-50	800	270	500	600	600
40-49	800	800	51+	800	270	500	600	600
50-59	800	800						
60-69	800	800						
70+	800	700						
Gestación			**Gestación**					
(2.ª mitad)	800	800	(2.ª mitad)	800	370	800	700	700
Lactación	1.300	1.300	**Lactación**		450	850	950	
			1os 6 meses	1.300				950
			2os 6 meses	1.200				950

[a] *Ingestas recomendadas de energía y nutrientes para la población española. Departamento de Nutrición. Madrid, 1994.*

[b] *Ortega RM, Requejo AM, Navia B. Ingestas recomendadas de energía y nutrientes para la población española. Madrid, 1999.*

[c] *Food and Nutrition Board, National Research Council. Recommended Dietary Allowances, 10th ed. National Academy Press. Washington, DC, 1989.*

[d] *FAO/WHO. Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B_{12}. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Food and Agriculture Organization. Rome, 1998.*

[e] *Scientific Committee for Food. Proposed Nutrient and Energy Intakes for the European Community: Report of the Scientific Committee for the European Community. Nutr Rev 1993; 51: 209-12.*

[f] *Department of Health. Dietary reference values for food and nutrients for the United Kingdon. Report of the Panel on Dietary Reference Values of the Committee on Medical Aspects of Food Policy. HMSO. London, 1991.*

No obstante, hay que tener en cuenta que en esta etapa de la vida se pueden dar en mayor medida enfermedades que impiden la correcta absorción, transporte, metabolismo, almacenamiento y actuación de esta vitamina, por lo que en ciertos casos las recomendaciones podrían variar **(Tabla 4)**.

8. Evaluación de la situación nutricional en vitamina A (deficiencia y exceso)

Diversos factores, además de la ingesta, pueden condicionar el estatus en vitamina A. Así, por ejemplo, algunos estudios han demostrado que la exposición excesiva de la piel a la luz solar o rayos UV-A causan una degradación importante de los carotenoides, disminuyendo por tanto sus niveles plasmáticos.

Además, se ha observado que en fumadores, tanto activos como pasivos, los niveles de carotenos en plasma son significativamente inferiores a los de no fumadores.

Por otra parte, las infecciones crónicas y el estrés pueden acelerar el catabolismo y excreción de la vitamina A. Así, por ejemplo, en los casos de cáncer, tuberculosis, neumonía, infecciones del tracto urinario y enfermedades prostáticas, la excreción de la vitamina aumenta y disminuyen, por tanto, sus niveles. Además, durante la pirexia, en la hepatitis infecciosa, así como en niños con fiebre reumática, se ha observado que los niveles plasmáticos de vitamina A se reducen.

Las infecciones provocan una alteración en la utilización y distribución de la vitamina A en los tejidos. Así, diversos estudios han puesto de manifiesto que en los procesos infecciosos, incluso en el periodo de incubación, se produce una disminución en los niveles plasmáticos de retinol. A su vez, estos menores niveles de retinol están asociados con el aumento de las proteínas de fase aguda que se producen en los procesos infecciosos y en los traumatismos. Por ello, además de que la deficiencia de vitamina A puede contribuir a la aparición de infecciones, al valorar el estatus en vitamina A hay que tener en cuenta que la presencia de infecciones puede ser la responsable de la deficiencia de vitamina A en personas correctamente nutridas.

En los niños prematuros también se han observado cifras más bajas de esta vitamina que en los nacidos a término. Por tanto, y ya que la vitamina A es necesaria para la correcta diferenciación y mantenimiento de las células secretoras de mucus, se considera que el estado deficiente de la vitamina puede ser un factor predisponente del padecimiento de la enterocolitis necrotizante en los niños prematuros. Parece ser que el paso transplacentario de vitamina A no es completamente efectivo, hecho que, junto con la inmadurez en la producción de RBP a nivel hepático, pueden ser los responsables de los bajos niveles de vitamina A, especialmente en niños prematuros. Asimismo, en alcohólicos crónicos los niveles plasmáticos de vitamina A disminuyen, debido a que el alcohol tiene efectos adversos sobre el metabolismo de la vitamina A y provoca una reducción en el almacenamiento hepático de la vitamina y de la síntesis de RBP.

En pacientes con insuficiencia pancreática, enfermedades hepáticas, colitis ulcerosa y otras patologías que conllevan una malabsorción, las cifras de la vitamina también pueden estar disminuidas debido a una ineficacia en su absorción.

En el caso de la enfermedad hepática grave, los niveles de retinol decrecen entre otras causas por la falta de síntesis de RBP. Sin embargo, los niveles de caroteno tienden a aumentar dado que no se efectúa su conversión a vitamina A activa.

Por otra parte, en la fibrosis quística la reducción en los niveles de vitamina A puede estar asociada a la disminución de zinc, RBP y prealbúmina. Además, la deficiencia en zinc limita la síntesis de RBP porque este mineral es necesario para la síntesis hepática de la proteína transportadora. La degradación de la RBP se realiza en el riñón, por lo que la enfermedad renal eleva también los niveles séricos de la vitamina.

Durante el embarazo se ha observado que se pueden elevar los niveles séricos de RBP y con ello el retinol.

La situación nutricional en vitamina A puede ser evaluada por medio de métodos bioquímicos, fisiológicos y clínicos. La OMS recomienda utilizar varios criterios simultáneamente para evaluar el grado de riesgo de deficiencia.

Dentro de estos métodos se incluyen el control de la ingesta alimentaria, los niveles de RBP plasmáticos y los síntomas clínicos. El estatus en vitamina A puede ser clasificado en cuatro categorías: deficiencia severa, deficiencia marginal, estado satisfactorio y excesivo o tóxico. En la **Tabla 5** se detallan los indicadores más importantes de la situación en vitamina A.

8.1. Deficiencia severa

Se estima que alrededor de 250 millones de personas, y principalmente lactantes y niños

Tabla 5. INTERPRETACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE VITAMINA A Y CAROTENO

Estatus	Vitamina A (retinol)	Caroteno	Signos oculares	Ceguera nocturna	Clínica
Deficiencia severa	< 20 µg/dl	< 40 µg/dl	Presentes	Presente	Hepatopatía grave
	< 10 µg/dl	Variable			Depósitos insuficientes, queratomalacia
Deficiencia marginal	10-19 µg/dl	20-39 µg/dl	Ausentes	Ausente	Baja ingesta, depósitos limitados, reducción en el apetito y crecimiento
Satisfactorio	> 20 µg/dl	> 40 µg/dl	Ausentes	Ausente	Situación normal
	> 20 µg/dl	< 40 µg/dl			Situación normal, pero con ingesta muy baja o nula de productos vegetales
Excesivo	> 65 µg/dl		Algunos	Ausente	Ingesta excesiva de vitamina A
		> 300 µg/dl			Ingesta excesiva de carotenoides

pequeños, presentan deficiencia de vitamina A, siendo ésta una de las causas más importantes de la elevada mortalidad y morbilidad infantil en países en desarrollo.

Las deficiencias primarias de la vitamina A son debidas a una ingesta insuficiente, mientras que las secundarias aparecen como resultado de otros trastornos como son enfermedades del hígado, como la fibrosis quística y la cirrosis alcohólica, malabsorción, como en la colestasis, enfermedades severas del intestino, resección, infecciones gastrointestinales, abetalipoproteinemia, insuficiencia de ácidos biliares, desnutrición proteico-energética o deficiencia en zinc. En los adultos es rara la deficiencia en vitamina A y suele ser más de tipo secundario a enfermedades. Durante las etapas iniciales de la deficiencia se utiliza la vitamina A almacenada principalmente en el hígado, se disminuye la excreción de metabolitos de la vitamina y se favorecen los mecanismos de conservación de la misma, de manera que las concentraciones en plasma y en la retina permanecen en niveles normales. No obstante, si la deficiencia prosigue, los mecanismos homeostáticos no son suficientes y se producen los signos clínicos característicos. La deficiencia en esta vitamina causa diversas patologías destacando la ceguera nocturna, xeroftalmia, infecciones y patología cutánea.

8.1.1. Ceguera nocturna (nictalopía)

Ante una deficiencia de vitamina A la retina se ve afectada, dificultándose la visión en la oscuridad, ya que la sensibilidad a la adaptación a la oscuridad está directamente relacionada con la cantidad de rodopsina presente en el ojo; por tanto, si la vitamina A sérica disminuye también lo hace a nivel ocular dificultándose la visión nocturna. Esta falta de síntesis de suficiente rodopsina se ve exacerbada por la desnutrición proteico-calórica y la deficiencia en zinc. La ceguera nocturna también

se produce cuando existe un defecto en la síntesis de RBP. Así, por ejemplo, las mutaciones en el gen *RBP4* implicado en la codificación de la proteína RBP provocan la aparición de signos como la ceguera nocturna (*ver Capítulo 4.39*).

8.1.2. Xeroftalmia

Esta enfermedad se produce ante una deficiencia grave de vitamina A. Es el resultado de una atrofia de las glándulas perioculares y una hiperqueratosis de la conjuntiva. Las células conjuntivales descamadas tienden a acumularse en el ángulo del ojo, produciendo las características manchas de Bitot. En la córnea se produce sequedad, xerosis y ulceración corneal, perdiéndose la transparencia necesaria para el correcto proceso de la visión. Todo ello conduce al reblandecimiento o queratomalacia y queratinización de la córnea, conduciendo a la perforación y uveítis que puede concluir en una ceguera definitiva (*ver Capítulo 4.39*).

8.1.3. Degeneración macular

La degeneración macular asociada a la edad es una de las principales causas de pérdida de visión en los países occidentales, estimándose que afecta al 25% de las personas mayores de 75 años. La etiología de esta enfermedad es multifactorial, estando también implicada la deficiencia en vitamina A. Además, los defectos genéticos responsables de la alteración del metabolismo y utilización de la vitamina A contribuyen al desarrollo de la degeneración macular. Así, diversas mutaciones en los genes implicados en la síntesis del 11-*cis*-retinal y metabolitos intermediarios pueden comprometer el funcionamiento fisiológico de la retina, resultando en una degeneración gradual de las células de la retina (*ver Capítulo 4.39*).

8.1.4. Infecciones

La pérdida de la integridad de la mucosa debida a la deficiencia vitamínica A aumenta la susceptibilidad a las infecciones bacterianas, virales y parasitarias. Además, la deficiencia conlleva una alteración de la inmunidad celular, lo cual también contribuye al mayor riesgo de padecer infecciones (*ver Capítulo 4.41*).

8.1.5. Patología cutánea

Ante una deficiencia de vitamina A las células epiteliales secretoras de mucus tienden a ser reemplazadas por células escamosas y queratinizantes. Por ello, los epitelios de la tráquea, glándulas salivares y la vagina, entre, otros, pueden queratinizarse, viéndose por tanto gravemente afectados. Además, puede producirse una hiperqueratosis folicular (frinoderma) en la que la obstrucción de los folículos pilosos con tapones de queratina produce la "piel de gallina" o "piel de sapo" que hacen que la piel se vuelva seca, escamosa y áspera (*ver Capítulo 4.38*).

8.1.6. Otras patologías

La deficiencia de vitamina A también conlleva un retraso en el crecimiento en los niños, anormalidades en el remodelado óseo, atrofia de los odontoblastos y por tanto alteración de la dentina y la formación de los dientes, disminución de la fertilidad y alteraciones en la reproducción. Además, se pueden producir quistes en glándulas endocrinas como en la hipófisis y las glándulas suprarrenales, alteraciones tiroideas y movimientos descoordinados, calambres de generación cerebral y aumento de la presión intracraneal.

Por otro lado, se pueden formar cálculos renales por la queratinización del epitelio del tracto urinario. Asimismo, estudios realizados en Francia han puesto de manifiesto que los niveles medios de vitamina A eran significativamente más bajos en los individuos formadores de cálculos renales de forma idiopática respecto a los que los forman metabólicamente y a los sujetos control. Estos resultados sugieren que la litiasis renal idiopática puede estar favorecida por la deficiencia de vitamina A.

8.2. Deficiencia marginal

Esta situación se da cuando la gravedad de la deficiencia de la vitamina es menor, y los signos son similares a los indicados anteriormente para el estado de deficiencia severa, pero de menor intensidad.

La deficiencia marginal se produce cuando los depósitos hepáticos empiezan a verse afectados,

pero suele presentarse de forma subclínica, por lo que en muchos casos no se diagnostica.

8.3. Estado satisfactorio

Este estado implica la ausencia de signos clínicos, la posibilidad de llevar a cabo todas las funciones fisiológicas que dependen directa o indirectamente de la vitamina y la existencia de una reserva suficiente para cubrir las necesidades en caso de estrés o en periodos de menor ingesta nutricional.

En individuos sanos el retinol plasmático se mantiene en un estrecho rango (40-50 µg/dl en adultos y aproximadamente la mitad en niños), variando en función de las ingestas de vitamina A preformada así como de sus provitaminas. En el control de dichas concentraciones influyen varios factores como la regulación de la expresión de la proteína C-II en las células estrelladas del hígado y la regulación de las enzimas que esterifican el retinol e hidrolizan dichos ésteres. El hígado y los riñones juegan un papel muy importante en estas regulaciones.

Sin embargo, los niveles plasmáticos de carotenoides no parecen estar regulados, sino que reflejan directamente la ingesta de alimentos ricos en los mismos.

8.4. Estado tóxico o excesivo

La hipervitaminosis A se puede dar tanto en niños como en adultos al ingerir más de 50.000 UI (12 veces las RDA) durante varios meses (toxicidad crónica) o bien > 660.000 UI en una sola dosis (toxicidad aguda). Por ello, hay que tener precaución en las personas que reciben dosis terapéuticas por el riesgo de llegar a una hipervitaminosis.

Los síntomas de la hipervitaminosis incluyen fatiga, anorexia, vómitos, incoordinación motora, dolor de cabeza y diplopía relacionados con el aumento en la presión cerebroespinal. Además, aparece queilitis, estomatitis, conjuntivitis y en general alteraciones a nivel de la piel y de las membranas de la mayor parte de las mucosas. Otros síntomas son dolor óseo, hepatomegalia con anormalidades en el hígado, hipercalcemia e hipoprotombinemia.

Pueden producirse otras alteraciones a nivel ocular debido a que los niveles tóxicos de vitamina A y sus metabolitos pueden acumularse en la retina como resultado de un bloqueo en su utilización y metabolismo ante las altas dosis.

Las mujeres embarazadas, o con posibilidad de estarlo, deben evitar las megadosis de vitamina A debido a que los retinoides, en exceso, son teratogénicos. Los efectos más comunes son las anormalidades cráneo-faciales como microcefalia, alteraciones cardiacas congénitas, defectos en riñón y timo, y desórdenes en el sistema nervioso central. Los efectos teratogénicos de los retinoides pueden derivar de la actuación sobre la expresión del gen *Hoxb-1* que regula la diferenciación de las células en el embrión en las primeras fases de su desarrollo.

El etanol puede promover la hepatotoxicidad del retinol y en menor medida del β-caroteno. Las células estrelladas del hígado constituyen el principal almacén de retinol, y el etanol interacciona con dichas células promoviendo su proliferación y capacidad de producir tejido fibroso. Por todo ello, consumir etanol afecta a las funciones fisiológicas de la vitamina A, de hecho en pacientes con hepatitis y cirrosis alcohólica se ha observado una menor concentración de retinol y de RBP.

Los efectos tóxicos de los carotenoides son bajos. No obstante, se pueden acumular en la piel, produciéndose una hipercarotenodermia que afecta a la piel, pero no a la esclerótica, y es reversible al cesar los consumos excesivos de caroteno. Tampoco se ha observado que los carotenoides tengan efectos teratogénicos.

En fumadores, un exceso de β-caroteno puede favorecer el aumento de derivados químicos carcinogénicos del humo del tabaco en el pulmón al estimular enzimas metabólicas, por lo que se puede aumentar la incidencia de cáncer de pulmón. Esto es debido a que el β-caroteno puede actuar como prooxidante a altas presiones de oxígeno (como ocurre en el pulmón) y bajo las condiciones de atmósfera rica en radicales libres producidas por los químicos presentes en el humo del tabaco, por lo que puede provocar una inflamación a nivel pulmonar. Algunos autores sugieren que el β-caroteno puede actuar como un promotor de cánceres preexistentes de forma latente en el pulmón. Por ello, no se debe suplementar con β-caroteno a los fumadores.

Algunos de los compuestos formados durante la oxidación del β-caroteno, y que pueden ser tóxicos, son el 4-nitro-β-caroteno, β-apo-carotenos y β-caroteno epóxidos.

Además, los superóxidos generados por la autooxidación de los retinoides pueden dismutar a peróxidos, que son los responsables del daño que se produce sobre el DNA en presencia de metales endógenos que catalizan estos procesos.

El NOAEL (***N**o **O**bserved **A**dverse **E**ffect **L**evel*) establecido para la vitamina A total es de 10.000 UI (3.000 µg EqR). Por su parte, el LOAEL (***L**owest **O**bserved **A**dverse **E**ffect **L**evel*) ha sido cifrado en 21.600 UI (6.500 µg EqR). Estos valores son determinados por el *Food and Nutrition Board* del *Institute of Medicine* y el ***C**ouncil for **R**esponsible **N**utrition* (CRN). Considerando sólo el β-caroteno, se ha marcado un NOAEL de 41.666 UI, no existiendo cifras establecidas para el LOAEL.

9. Cuantificación

Los indicadores biológicos, funcionales e histológicos del estatus en vitamina A incluyen la xeroftalmia, ceguera nocturna, la citología de impresión conjuntival y la adaptometría a la oscuridad. No obstante, para la deficiencia marginal en esta vitamina estos indicadores son insuficientes.

Las concentraciones séricas de retinol están controladas homeostáticamente, por lo que no disminuyen hasta que las reservas hepáticas de la vitamina están muy bajas. Por ello, se han desarrollado diversos métodos que reflejen las reservas de vitamina A y por tanto indiquen de forma más precisa su deficiencia, destacando el test de la respuesta a la dosis relativa (RDR) y el test de la respuesta modificada a la dosis relativa (MRDR).

El test RDR se basa en el principio de que durante la depleción de vitamina A se acumula apo-RBP en el hígado, ya que no hay suficiente vitamina que ligar. En este test se administran pequeñas dosis de ésteres de retinol, y se mide la vitamina en sangre a tiempo cero y a las cinco horas. De este modo, al administrar esta dosis de vitamina A, ésta se unirá al exceso de RBP pasando al suero en forma de complejo holo-RBP-retinol, con lo cual se producirá un incremento de la vitamina en suero respecto al valor inicial que se valora en forma de porcentaje.

El test MRDR se basa en el mismo principio que el RDR, pero se utiliza 3,4-dideshidrorretinil acetato, debido a que las concentraciones de este compuesto de forma natural en el plasma humano son muy bajas, por lo que se requiere una sola muestra para realizar una medida de la vitamina a las 4 o 6 horas de la administración del compuesto. Estos dos tests presentan el inconveniente de que no permiten calcular las reservas totales de vitamina A en el organismo. Para ello, en algunas ocasiones se ha utilizado el test de la dilución del isótopo de retinol deuterado.

Los métodos usados para el análisis de la vitamina A en plasma, leche, tejidos y alimentos son la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) unida a un detector UV, espectrofotometría UV, colorimetría usando uno o varios ácidos de Lewis y los métodos fluorimétricos.

El retinol presenta la máxima absorción UV (λmáx) a una longitud de onda de 325 nm y tiene un coeficiente de absorción molar de 53.000 $cm^{-1}M^{-1}L$ ($E^{1\%}_{1\ cm}$ de 1.850) en hexano. Para el β-caroteno la máxima absorción es a $\lambda_{máx}$ = 450 nm en hexano y un coeficiente de absorción molar de 136.900 $cm^{-1}M^{-1}L$ ($E^{1\%}_{1\ cm}$ de 2.550).

La medida de la RBP también se utiliza para diagnosticar la deficiencia en vitamina A. Esta proteína puede determinarse mediante radioinmunoensayo (RIA), ELISA, nefelometría o por inmunodifusión radial (RID), siendo este último método el más simple, el que requiere un menor volumen de suero y el más barato.

10. Epidemiología

La deficiencia de vitamina A afecta a unos 253 millones de niños en edad preescolar en todo el mundo.

En los países en desarrollo la avitaminosis A es una consecuencia muy frecuente de desnutrición, mientras que en los desarrollados se produce principalmente de forma secundaria a diversas enfermedades.

En los países industrializados, aunque la prevalencia de deficiencia de vitamina A es baja, los

niños y los ancianos son poblaciones de especial riesgo. Esto es debido a que los niños tienen unos requerimientos elevados por el rápido crecimiento, diferenciación celular y metabolismo, y en ancianos una ingesta insuficiente puede llevar a desarrollar carencias. Las mujeres durante la gestación y lactación también son más vulnerables a sufrir una deficiencia en vitamina A.

En numerosos estudios epidemiológicos se ha observado que en países subdesarrollados la coexistencia de una deficiencia en vitamina A con la deficiencia en hierro es muy frecuente. Asimismo, se ha puesto de manifiesto que la suplementación con vitamina A puede contribuir a reducir los casos de anemia, ya que esta vitamina moviliza los depósitos de hierro del hígado, favorece la eritropoyesis y reduce las infecciones y por tanto la anemia asociada a las infecciones.

En la cuantificación de la ingesta de vitamina A pueden presentarse problemas debido a que, como ya se ha indicado, la biodisponibilidad de la vitamina preformada y de los carotenoides con actividad provitamínica A puede estar influida por numerosos factores.

En cuanto a la ingesta de esta vitamina en España, el estudio eVe, que engloba los estudios realizados entre 1990 y 1998 sobre muestras aleatorias representativas de diversas poblaciones españolas, indica una ingesta media de 686 µg EqR en varones y de 665 µg EqR en mujeres. Los aportes medios representan el 67% de las IDR (ingestas diarias recomendadas) para España (98% de las IDR para Europa) en varones y el 83% (111% de los valores europeos) en las mujeres.

El porcentaje de población que realiza ingestas insuficientes para la vitamina A es elevado, cifrándose en un 60,5% en varones (38,6% al considerar las IDR para Europa) y 48,5% en mujeres (30% para valores europeos).

En este estudio, el grupo de los lácteos fue la principal fuente dietética de retinol (58%) seguido por los huevos (19%), cereales (11%) y aceites (10%). Por otro lado, las verduras suministran la mayor proporción de carotenos de la dieta (76%) y las frutas contribuyen con un 17%. En conjunto, las principales fuentes dietéticas de vitamina A son las verduras (40%), lácteos (30%), frutas (9%) y aceites (5%).

El metaanálisis de los estudios realizados en España en el periodo 1990-1999, pone de manifiesto que, aunque la ingesta media de vitamina A está dentro del rango de referencia, en los estudios revisados se encuentra entre un 14% y un 64,4% de personas con ingestas inferiores a las marcadas como aconsejadas.

Además, en cuanto al estudio bioquímico de esta vitamina, se observa que, en general, las cifras son bastante adecuadas, aunque entre un 0 y un 33,3% de los estudiados presentaban cifras deficitarias.

En Estados Unidos la ingesta media de vitamina A es de 620 EqR, de los cuales la vitamina A preformada representa el 75%, y los carotenoides, el 25%.

11. Interrelaciones con otros nutrientes y con medicamentos

11.1. Interrelaciones con otros nutrientes

La eficacia en la absorción de la vitamina A depende de la presencia de grasa en la dieta. La proteína de la dieta también es necesaria para el normal metabolismo y transporte de la vitamina, por ello en la desnutrición proteico-energética tanto la absorción de la vitamina A como la formación de RBP están disminuidas.

La deficiencia de hierro y la de vitamina A están asociadas epidemiológicamente; además, la vitamina A puede afectar a la liberación del hierro almacenado en el hígado para su utilización. Asimismo, la deficiencia en hierro también puede disminuir la movilización de vitamina A desde el hígado, disminuyendo por tanto sus niveles en sangre.

Los signos clínicos de la deficiencia en zinc y de la vitamina A son similares en algunos aspectos como la queratosis, anorexia y ceguera en la oscuridad. Asimismo, el zinc es necesario para la formación de proteínas fundamentales para la funcionalidad de la vitamina A, como la RBP y las opsinas.

Cuando existe deficiencia de vitamina E, la vitamina A no se absorbe ni se almacena correc-

tamente debido a que la vitamina E estabiliza los lípidos de las membranas, principalmente las que contienen una alta proporción de ácidos grasos insaturados como los bastones de la retina. Por tanto, la vitamina E puede actuar como un antioxidante que protege la vitamina A, tanto en el lumen intestinal como en el interior de las células. La vitamina E además mejora la esterificación de la vitamina A en el hígado e inhibe la hidrólisis de los ésteres de retinilo.

Por otra parte, el consumo de alcohol de forma crónica disminuye los niveles de vitamina A tanto a nivel hepático como sanguíneo.

11.2. Interacciones con medicamentos

Los fármacos que disminuyen la absorción en el intestino pueden reducir también la absorción de vitamina A. En este sentido, los agentes catárticos y laxantes dificultan la absorción de la vitamina. Así, por ejemplo, el uso crónico de aceite mineral como laxante parece reducir los niveles séricos de β-caroteno.

Los medicamentos que afectan a la actividad de las sales biliares también impiden la correcta absorción de la vitamina. La colestiramina y la neomicina secuestran ácidos biliares inhibiendo la digestión y absorción de grasas y vitamina A.

Por otra parte, el fenobarbital y la cafeína pueden disminuir las reservas de vitamina A. Asimismo, la inyección de corticosterona causa una rápida pérdida de vitamina A del plasma, hígado, glándulas adrenales y timo, mientras que los anticonvulsivantes incrementan las concentraciones sanguíneas de vitamina A y RBP.

Por su parte, los anticonceptivos orales que contienen estrógenos también aumentan dichas concentraciones, debido a que aumentan la síntesis hepática de las proteínas transportadoras específicas, pero disminuyen las reservas hepáticas debido a que se exporta a la sangre el complejo retinol-RBP.

No obstante, la movilización de las reservas a partir del hígado es más frecuente en personas desnutridas, mientras que en mujeres con un estatus adecuado de vitamina A el consumo de anticonceptivos orales no supone variaciones importantes en el retinol.

12. Indicaciones terapéuticas

La vitamina A para su uso terapéutico se distribuye principalmente en forma de retinol y su potencia biológica se expresa en unidades internacionales. De los retinoides sintéticos utilizados en terapéutica los más efectivos y de menor toxicidad son el ácido todo-*trans* retinoico (tretinoína), ácido 13-*cis*-retinoico (isotretinoína) y un éster etílico del ácido todo-*trans* retinoico (etretinato). El más efectivo en el tratamiento del acné es la tretinoína junto con el ácido 13-*cis*-retinoico, que reducen en gran medida la producción de grasa por las glándulas sebáceas (*ver Capítulo 4.38*).

Estos compuestos son irritantes para la piel, por lo que debe evitarse el contacto con mucosas. Durante las primeras semanas de tratamiento se produce eritema y exfoliación causados por la ruptura de los comedones preexistentes, por lo que es recomendable evitar la exposición directa al sol. Además, este compuesto es teratogénico, por lo que no se puede utilizar en mujeres embarazadas, y en mujeres en edad fértil su utilización debe ser supervisada.

La vitamina A, debido a su papel en el mantenimiento de la integridad y buen estado de la piel, se utiliza en el tratamiento de ciertas afecciones de la misma. Así, el retinol se ha utilizado en el tratamiento de algunos desórdenes dermatológicos queratinizantes como la ictiosis, enfermedad de Darier, pitiriasis rubra pilaris y las queratodermas palmoplantares. Los mecanismos de acción en las aplicaciones terapéuticas de los retinoides siguen investigándose, ya que pueden actuar de diversas formas. Los retinoides parece que disminuyen las alteraciones producidas por la luz ultravioleta sobre la piel con la edad mediante la estimulación de la producción de colágeno.

Además, se ha observado que algunos ésteres de retinol, principalmente el palmitato de retinol, debido a que se concentran a nivel de la epidermis y absorben la radiación ultravioleta a una λmax de 325 nm, son eficaces para prevenir los problemas causados por la luz ultravioleta, el eritema debido a las quemaduras solares y la formación de dímeros de timina en la estructura del DNA.

El efecto terapéutico del ácido 13-*cis*-retinoico sobre el acné se debe a la disminución de la secreción sebácea, inhibición de la comedogénesis,

disminución del número de bacterias tanto en los conductos como en la superficie y reducción de la inflamación mediante la inhibición de la respuesta quimiotáctica de monocitos y neutrófilos. Los retinoides de última generación, además, tienen un efecto antiinflamatorio, contribuyendo a la mejoría de los síntomas del acné. La acción de los retinoides en la psoriasis se debe a la reducción que producen sobre el estrato córneo y la disminución de la proliferación de los queratocitos y de la inflamación. En algunos niños con síndrome de Down se ha utilizado un suplemento de 5.000 UI de vitamina A para prevenir las infecciones respiratorias a las que estos niños son especialmente susceptibles.

Los alcohólicos con cirrosis suelen responder bien al tratamiento de la ceguera nocturna mediante un suplemento oral de 10.000 UI durante 1-4 semanas. No obstante, si existe también deficiencia de zinc o desnutrición proteico-calórica, es necesario tratar previamente estas afecciones, ya que, como ya se ha indicado, estos nutrientes son necesarios para el correcto funcionamiento de la vitamina A.

Por otra parte, en fumadores de un gran número de cigarrillos se ha descrito una reducción de la metaplasia bronquial con el etretinato. Además, en un estudio realizado en una mujer con enfermedad de Crohn, se observó que la suplementación con vitamina A contribuyó a la recuperación del normal funcionamiento de la barrera intestinal, por lo que aun tratándose de un solo caso, resulta interesante su mención aunque sean necesarias investigaciones posteriores. También en pacientes africanos con glaucoma resultó de utilidad la suplementación oral con vitamina A, E y C y proteínas para el tratamiento de esta afección ocular. Los retinoides, tanto naturales como sintéticos, tienen efectos terapéuticos en el tratamiento de algunos casos de cáncer, debido a su capacidad de inhibir la proliferación de células tumorales e inducir la apoptosis de estas células. Además, pueden estimular una rediferenciación de las células y prevenir que se produzcan más dediferenciaciones en varios tejidos neoplásicos.

El uso terapéutico de preparados de vitamina A está contraindicado en embarazadas por su capacidad teratogénica, como ya se ha explicado anteriormente, así como en pacientes con enfermedades renales, ya que el riñón no puede metabolizar correctamente la RBP ni oxidar el retinol a ácido retinoico.

13. Suplementación y preparados de retinol

Una manera eficaz de suplementar a la población, y principalmente en las zonas donde es más necesario, es la fortificación y enriquecimiento con vitamina A de los alimentos de uso común como la leche, margarina, mantequilla, aceites, queso, harina, pan y arroz, entre otros. Además, el té es vitaminado en los países donde se consume diariamente en grandes cantidades como en India y Asia. A su vez, en Filipinas se ha vitaminizado el glutamato sódico.

13.1. Retinol

Existen múltiples preparados multivitamínicos que contienen dosis de 1,2 a 3,0 mg por día (4.000-10.000 UI). También hay cápsulas con megadosis de 7,5 a 15 mg de retinol (25.000-50.000 UI), aunque estas últimas dosis hay que utilizarlas con precaución por sus posibles efectos teratógenos y de toxicidad crónica. También está disponible una preparación hidrosoluble que contiene 50.000 UI/ml de retinol, empleada por vía intramuscular en pacientes con problemas de malabsorción.

13.2. Tretinoína

El ácido todo-*trans*-retinoico (Retin-A) se puede utilizar de forma tópica tanto en forma de solución (0,05%), como crema (0,05-0,10%) o como gel (0,01-0,025%) para el tratamiento del acné y otras alteraciones de la piel.

13.3. Isotretinoína

El ácido 13-*cis*-retinoico (accutane) se presenta en forma de cápsulas de 10, 20 y 40 mg para el tratamiento del acné globular.

13.4. β-caroteno

El β-caroteno puede ser administrado por vía oral por medio de cápsulas de 30 mg, así como de cápsulas de 15 mg recubiertas.

14. Resumen

- La vitamina A pertenece al grupo de las vitaminas liposolubles y se encuentra fundamentalmente en los tejidos grasos de los animales en forma de retinoides, y en las plantas muy pigmentadas en forma de carotenoides.

- Una vez absorbida en el duodeno y yeyuno, mediante la acción de enzimas digestivas y las sales biliares, es transportada mediante proteínas transportadoras específicas a los diferentes tejidos, donde ejercerá su función, siendo previamente reconocida por receptores celulares específicos, y en algunos casos, metabolizada a las correspondientes formas activas.

- Así, en el proceso visual está implicado directamente el 11-*cis*-retinal, que se forma a partir del retinol circulante, siendo necesaria para la fotorrecepción la isomerización de este compuesto y la progresión de los pigmentos visuales a través de una serie de sustancias intermedias.

- A nivel de las células epiteliales, el ácido retinoico es el compuesto más activo implicado en la diferenciación de las mismas. Además, la vitamina A tiene un importante papel en el crecimiento, metabolismo óseo, desarrollo dentario, reproducción, embriogénesis, hematopoyesis, comunicación intercelular, protección frente al cáncer y enfermedades cardiovasculares (en parte debido a sus propiedades antioxidantes), inmunidad y regulación de los depósitos de grasa corporal. Por otra parte, algunos carotenoides no provitamínicos A como la luteína, zeaxantina y licopeno, también presentan funciones relevantes en el organismo.

- Debido al gran número de funciones que posee esta vitamina, su deficiencia desencadena cuadros clínicos de gran importancia a nivel mundial como la ceguera nocturna, la xeroftalmia, infecciones y diversas patologías cutáneas. Por ello, es imprescindible mantener una ingesta adecuada de esta vitamina que asegure el mantenimiento de la salud, sin llegar a superar los límites máximos, ya que la vitamina A también presenta una alta toxicidad a dosis excesivas.

15. Bibliografía

Alpers DH, Clouse RE, Stenson WF. Vitaminas. En: Alpers DH, Clouse RE, Stenson WF (eds.). Manual de terapéutica nutricional. Salvat. Barcelona, 1990; Capítulo 1: 3-70.
Diagnóstico del estatus en vitamina A, procesos metabólicos y uso terapéutico. En general, información bastante esquematizada y conceptos claros, acerca del metabolismo de la vitamina A, así como las principales fuentes alimentarias y funciones más relevantes.

Aranceta J, Serra L, Ortega RM, Entrala A, Gil A (eds.). Libro blanco. Las vitaminas en la alimentación de los españoles. Estudio eVe. Editorial Médica Panamericana. Madrid, 2000.
Epidemiología de las vitaminas, con datos de estudios realizados en España durante los años 1990 y 1999 tanto de ingesta como de niveles en sangre. Cuantificación de las deficiencias e ingestas insuficientes de la vitamina A, así como fuentes alimentarias principales.

Codoceo R, Muñoz RA. Vitaminas liposolubles: vitaminas A, E y K. En: Hernández M, Sastre A (eds.). Tratado de Nutrición. Díaz de Santos. Madrid, 1999; Capítulo 11: 177-202.
Revisión de las características principales de la vitamina A, funciones y metabolismo, fuentes alimentarias, requerimientos nutricionales, así como cuadros carenciales más relevantes e hipervitaminosis A.

Combs GF. Vitamin A. En: The Vitamins. Fundamental Aspects in Nutrition and Health. Academic Press. San Diego, 1998; Capítulo 5: 107-53.
Información bastante amplia de la bioquímica de la vitamina A, así como las funciones y mecanismos de acción. Variedad de esquemas con estructuras químicas y varios casos clínicos.

Flodin NW. Vitamin A. En: Current Topics in Nutrition and Disease. Vol. 20: Pharmacology of Micronutrients. Alan R. Liss, Inc. New York, 1988; Capítulo 1: 3-30.
Explicación con detalle de una gran cantidad de estudios clínicos en los que se pone de manifiesto la influencia de la vitamina A. Interés en nuevas aplicaciones terapéuticas de la vitamina.

Mahan LK, Escott-Stump S (eds.). Nutrición y Dietoterapia de Krause. 10ª ed. McGraw-Hill Interamericana. México DF, 2001.
Vitamina A dentro del capítulo de vitaminas liposolubles y a lo largo de todo el libro en las diversas acciones en las que puede intervenir y patologías a las que puede estar asociada.

Mataix J, Ochoa J. Vitaminas. III Vitaminas antioxidantes. En: Mataix J (ed.). Nutrición y alimentación humana. ERGON. Madrid, 2002; Capítulo 8: 176-84.
Descripción y esquema de la estructura química de los carotenoides, mecanismos de digestión, absorción y metabolismo; principales efectos fisiológicos, ingestas recomendadas, fuentes alimentarias y pérdidas debido al procesamiento; efectos de la deficiencia y la toxicidad e implicación en la salud.

Napoli JL. Interactions of retinoid binding proteins and enzymes in retinoid metabolism. Biochim Biophys Acta 1999; 1440 (2-3): 139-62.
Explicación detallada de la importancia de las proteínas fijadoras de retinol, así como de los receptores con los que interactúan para permitir la funcionalidad de la vitamina A. Mecanismo de acción del retinol, y procesos sintéticos que dan lugar a los diferentes retinoides.

Ross AC, Zolfaghari R. Regulation of hepatic retinol metabolism: perspectives from studies on vitamin A status. J Nutr 2004; 134 (1): 269S-75S.
Descripición de las principales enzimas responsables de los procesos metabólicos que sufre la vitamina A, así como de los genes implicados en el control del metabolismo hepático de la vitamina A.

Shils ME, Young VR. Modern Nutrition in Health and Disease, 8th ed. Lea & Febiger. Philadelphia, 1998.
En este libro hay un capítulo completo dedicado a todos los aspectos relacionados con la vitamina A total, así como los retinoides y carotenoides. Además, en varios de los capítulos del libro se detalla la implicación de la vitamina en diversas funciones, papel en la aparición de enfermedades y relación con otros nutrientes.

Tanumihardjo SA. Assessing vitamin A status: past, present and future. J Nutr 2004; 134 (1): 290S-3S.
Explicación de las diversas técnicas empleadas para la valoración del estatus en vitamina A, tanto en el pasado como en la actualidad, así como las investigaciones para desarrollar nuevos indicadores en el futuro.

Thompson DA, Gal A. Vitamin A metabolism in the retinal pigment epithelium: genes, mutations, and diseases. Prog Retin Eye Res 2003; 22 (5): 683-703.
Revisión bibliográfica del mecanismo y compuestos implicados en el ciclo visual. Funciones de las proteínas y receptores implicados en el proceso visual junto con esquemas ilustrativos. Genética de la visión y mutaciones que desencadenan enfermedades.

Villa I. Vitaminas liposolubles. En: Tojo R (eds.). Tratado de Nutrición pediátrica. Editorial. Barcelona, 2001; Capítulo 13: 177-86.
Esquemas muy interesantes sobre aspectos nutricionales y metabólicos de la vitamina A, y de los mecanismos bioquímicos implicados en la formación de retinol. Además, se detallan las funciones, fuentes, absorción y metabolismo, junto con la descripción de los diferentes estatus en vitamina A que un individuo puede tener.

16. Enlaces web

- www.sightandlife.org/sightandlife/booksAll/SommerWest/SO08.pdf
- www.fao.org/DOCREP/004/Y2809E/y2809e0d.htm
- www.exrx.net/Nutrition/Antioxidants/VitaminA.html#anchor325800
- www.sightandlife.org/sightandlife/booksSALpdf/01SaLMan.pdf

1.24. Vitamina D

Olga Martínez Augustin ■ Víctor Puerta Fernández ■
María Dolores Suárez Ortega

Capítulo 1.24.

Vitamina D

- **1. Introducción**
- **2. Absorción de la vitamina D**
- **3. Fotobiogénesis**
- **4. Metabolismo hepático y renal de la vitamina D**
- **5. Inactivación y excreción de la vitamina D**
- **6. Control de la síntesis y degradación de vitamina D**
- **7. Fuentes de vitamina D**
- **8. Requerimientos nutricionales de vitamina D**
  - 8.1. Ingesta máxima tolerada de vitamina D
- **9. Mecanismo de acción de la vitamina D**
  - 9.1. Receptores de vitamina D
    - 9.1.1. Receptor de membrana del 24-R-calcitriol (VDRmem24,25)
    - 9.1.2. Receptor de membrana del calcitriol (VDRmem1,25)
    - 9.1.3. Receptor nuclear del calcitriol (VDRnuc1,25)
      - 9.1.3.1. El gen del VDRnuc1,25 humano (hVDRnuc1,25)
      - 9.1.3.2. Estructura proteica del VDR humano y su regulación mediante fosforilación
      - 9.1.3.3. Factores implicados en la regulación transcripcional por calcitriol
- **10. Acciones de la vitamina D**
  - 10.1. Acciones clásicas de la vitamina D. Homeostasis mineral
    - 10.1.1. Intestino
    - 10.1.2. Hueso
    - 10.1.3. Riñón
  - 10.2. Acciones no clásicas de la vitamina D
    - 10.2.1. Efectos de la vitamina D sobre la proliferación celular, la diferenciación celular y la apoptosis
      - 10.2.1.1. Cáncer
    - 10.2.2. Efectos de la vitamina D sobre el sistema inmune
      - 10.2.2.1. Infecciones

10.2.2.2. Inflamación y enfermedades autoinmunes
10.2.2.3. Artritis reumatoide
10.2.2.4. Enfermedad inflamatoria intestinal
10.2.2.5. Esclerosis múltiple
10.2.3. Efectos de la vitamina D sobre el sistema renina-angiotensina
10.2.4. Efectos de la vitamina D sobre el sistema nervioso

11. Niveles normales y deficiencia de vitamina D

12. Enfermedades relacionadas con alteraciones en el metabolismo de la vitamina D o en la respuesta a vitamina D

12.1. Raquitismo resistente a vitamina D o hipofosfatemia familiar
12.2. Hipoparatiroidismo
12.3. Raquitismo tipo I dependiente de vitamina D
12.4. Raquitismo tipo II dependiente de vitamina D

13. Resumen

14. Bibliografía

15. Enlaces web

Objetivos

- Conocer y comprender el metabolismo de la vitamina D.
- Saber las necesidades nutricionales de la vitamina D y los alimentos ricos en esta vitamina.
- Conocer las formas moleculares activas de la vitamina D y relacionarlas con su mecanismo de acción.
- Describir el efecto de la vitamina D sobre la homeostasis mineral, identificar los órganos diana y conocer los mecanismos de regulación.
- Conocer las acciones de la vitamina D sobre la diferenciación y la proliferación celular. Relacionar estas acciones con la posible utilización de análogos de la vitamina D en el cáncer.
- Estudiar las acciones de la vitamina D sobre el sistema inmune, el sistema nervioso y el sistema renina-angiotensina. Relacionar estas acciones con el efecto beneficioso de esta vitamina y de sus análogos en el tratamiento de distintas enfermedades.
- Observar los efectos derivados de la deficiencia y del consumo excesivo de vitamina D.
- Conocer las enfermedades relacionadas con alteraciones en el metabolismo de la vitamina D o en la respuesta a la vitamina D. Relacionar la utilización de distintas formas y análogos de esta vitamina en el tratamiento de estas enfermedades.

1. Introducción

Existen algunas referencias a enfermedades óseas parecidas al raquitismo atribuidas a Soranus de Éfeso, un médico que practicó la medicina en Roma durante los reinados de Adriano y Trajano. No obstante, hasta el siglo XVII, cuando el raquitismo era endémico en Europa, no aparecen más descripciones de esta enfermedad. Aunque la asociación entre el raquitismo y la deficiencia de vitamina D no se estableció hasta principios del siglo XX, ya en 1807 Bardsley escribió sobre el uso del aceite de hígado de bacalao en la prevención de la osteomalacia, y Palm en 1890 sugirió que la luz del sol poseía acción antirraquítica.

El concepto de vitamina fue introducido por primera vez en 1911 por Funk; en 1913 McCollum y Davis describieron la existencia de un factor en el aceite de hígado de bacalao que era esencial para el crecimiento y que denominaron vitamina A. Unos años después, en Inglaterra (1919), Edward Mellanby *et al.* indujeron raquitismo a perros mediante manipulación dietética y observaron que la administración de aceite de hígado de bacalao era capaz de producir la curación, asumiendo que la vitamina A era capaz de prevenir y curar el raquitismo. Posteriormente, McCollum *et al.* (1922) demostraron que la destrucción de la vitamina A del aceite de hígado de bacalao mediante oxidación no eliminaba su actividad de prevención del raquitismo, por lo que dedujeron que este efecto debía deberse a un factor resistente al calor y la aireación al que denominaron vitamina D.

Simultáneamente, Huldschinsky (1919) demostró mediante estudios clínicos que la exposición de niños a la luz solar o a luz ultravioleta era también capaz de prevenir o curar esta enfermedad. Por tanto, la cura del raquitismo parecía estar relacionada tanto con la exposición a la luz solar como con sustancias presentes en el aceite de hígado de bacalao.

Steenbock *et al.* describieron, en los años 20 del siglo XX, que la irradiación de ciertos alimentos y productos biológicos podía inducir actividad antirraquítica en estos productos. Este descubrimiento proporcionó información crucial para el aislamiento y la identificación de la vitamina D_2 y para la curación y eliminación del raquitismo como un problema médico importante, ya que llevó a la idea de que los alimentos podían ser fácilmente suplementados con esta vitamina y que la irradiación de ciertos alimentos como la leche o el pan podía hacer que éstos fueran útiles en el tratamiento del raquitismo.

Actualmente se considera que la vitamina D es una vitamina y una hormona. Así, es un compuesto orgánico que actúa como micronutriente, y su ingestión es necesaria para la mayoría de las poblaciones urbanas; de aquí que se considere una vitamina. De hecho, como la vitamina D no es muy abundante en la dieta, es adicionada a distintos alimentos en varios países, y su deficiencia es frecuente en invierno en países en los que los periodos de tiempo sin sol son largos.

A pesar de lo anterior, la suplementación con vitamina D es innecesaria en individuos que son capaces de completar sus requerimientos mediante la activación por irradiación (luz solar) del 7-deshidrocolesterol, un metabolito del colesterol que se

produce en el hígado y es exportado a la piel. La vitamina D producida en la piel por irradiación es a continuación metabolizada sucesivamente en el hígado y el riñón, produciéndose las formas activas que actúan sobre distintas dianas. Por tanto, los metabolitos 1α,25 dihidroxivitamina D_3 (calcitriol), y 24R,25 dihidroxivitamina D_3 (24-R-calcitriol) que se producen en condiciones normales en el riñón, independientemente de la dieta, y que actúan sobre los distintos órganos diana, pueden ser considerados hormonas, y la vitamina D una prohormona.

El término genérico "vitamina D" agrupa a dos moléculas distintas: el ergocalciferol o vitamina D_2 y el colecalciferol o vitamina D_3. Según la nomenclatura moderna, las vitaminas D_2 y D_3 se denominan ercalciol y calciol, respectivamente. La vitamina D_2 posee un doble enlace adicional en la cadena lateral y se produce mediante irradiación del ergosterol procedente de plantas, por lo que proviene necesariamente de la alimentación. Por su parte, la vitamina D_3 es la principal fuente de vitamina D en la naturaleza, que puede ser producida de manera endógena mediante la irradiación del 7-deshidrocolesterol (un derivado del colesterol) o bien proceder de la alimentación. La vitamina D_2 se utiliza en la suplementación de alimentos y se empleó en el pasado más ampliamente que la vitamina D_3 en el tratamiento de enfermedades relacionadas con deficiencias de vitamina D, porque era más barata y porque se creía que ambas eran igual de potentes. Un gran número de estudios posteriores demostraron que la vitamina D_2 es menos tóxica que la D_3. No obstante, en este Capítulo se va a estudiar, preferentemente, la vitamina D_3, ya que los mecanismos de acción, el metabolismo y, en líneas generales, las características de ambas vitaminas son muy parecidas. La **Tabla I** recoge la nomenclatura antigua y moderna de los compuestos relacionados con la vitamina D.

2. Absorción de la vitamina D

La vitamina D ingerida en la dieta es generalmente absorbida con las grasas en el duodeno y el íleon, siendo necesaria la presencia de ácidos biliares para que se produzcan las correspondientes micelas. Como consecuencia, la inhibición de la absorción de grasas da lugar a una disminución en la absorción de vitamina D. Además, en pacientes con pancreatitis crónica, enfermedad celiaca u obstrucción biliar también se produce malabsorción de la vitamina D.

Una vez absorbida por la mucosa intestinal, la vitamina D se incorpora a los quilomicrones y es exportada por vía linfática al hígado, donde se libera de éstos. La captación de la vitamina D en el hígado se realiza con el concurso de una proteína específica denominada ***DBP*** (***D-B****inding* ***P****rotein*: proteína de unión o fijadora de vitamina D), que es sintetizada en el propio hígado. Esta proteína es una α-globulina que actúa también como transportadora en la sangre de la vitamina D y de todos sus metabolitos; se han descrito al menos 37 metabolitos de la vitamina D_3 -aunque sólo la 25-hidroxivitamina D_3 [25(OH) vitamina D_3], el calcitriol y el 24-R-calcitriol son activos- a los que la BDP se une con distinta afinidad. La DBP es también conocida como

Tabla I. NOMENCLATURA DE LOS COMPUESTOS RELACIONADOS CON LA VITAMINA D

Vitamina D_3	Colecalciferol	Calciol
25-hidroxivitamina D_3	25-hidroxicolecalciferol	Calcidiol
1α,25-dihidroxivitamina D_3	1α,25-dihidroxicolecalciferol	Calcitriol
24R,25-dihidroxivitamina D_3	24R,25-dihidroxicolecalciferol	24-hidroxicalcidiol
Vitamina D_2	Ergocalciferol	Ercalciol
25-hidroxivitamina D_2	25-hidroxiergocalciferol	Ercalcidiol
1α,25-dihidroxivitamina D_2	1α,25-dihidroxiergocalciferol	Ercalcitriol

1α-globulina o componente específico del grupo (Gc). Se puede considerar que, además de proporcionar un sistema de transporte para la vitamina D, la DBP constituye el lugar principal de almacenamiento de ésta [principalmente en forma 25(OH) vitamina D_3 (*ver apartado 4*)].

La vitamina D puede ser también transportada en lipoproteínas plasmáticas. De hecho, el transporte en lipoproteínas o unido a la DBP depende de su origen: la vitamina D de origen endógeno se transporta unida a DBP, mientras que la de origen exógeno se transporta en quilomicrones y lipoproteínas. El medio de transporte determina entre otras cosas la velocidad con que la vitamina D es suministrada al hígado, siendo más rápida su captación cuando está unida a lipoproteínas.

3. Fotobiogénesis

La fotobiogénesis es el proceso por el cual se obtiene vitamina D_3 a partir del 7-deshidrocolesterol, un metabolito del colesterol producido en el hígado y exportado a la piel. En consecuencia, tanto los animales como el hombre pueden sintetizar vitamina D_3, y simplemente con una exposición suficiente a la luz solar o a radiación ultravioleta-B (UV-B) se puede evitar la deficiencia de esta vitamina. Se calcula que la exposición de la cara y las manos a la luz solar durante 15 minutos 3 veces a la semana puede proporcionar cantidades adecuadas de vitamina D.

La primera fase de la síntesis endógena de vitamina D_3 se produce en los estratos germinativo y espinoso (capas basal y mucosa, respectivamente) de la piel, y consiste en la fotoconversión del 7-deshidrocolesterol (o provitamina D_3) en previtamina D_3 o precalciferol. En este proceso, la luz UV-B se absorbe por el anillo B del 7-deshidrocolesterol, produciéndose la ruptura del enlace 9,10. La tasa de fotoconversión depende tanto de la cantidad como de la calidad de la radiación que llega a estas capas de la epidermis. De hecho, las longitudes de onda requeridas son del orden de 290-315 nm aunque el máximo de conversión ocurre a 295 nm **(Figura 1)**.

Posteriormente, la previtamina D_3 puede bien seguir transformándose en taquicolesterol y lumisterol mediante una nueva fotoconversión, o puede sufrir una isomerización química inducida por calor, obteniéndose la vitamina D_3. El proceso de isomerización es un fenómeno que dura varios días (a la temperatura normal del cuerpo la isomerización del 50% de la previtamina D_3 se produce en 28 horas y son necesarias 36 horas para que se transforme el 96% de la previtamina D_3 en vitamina D_3).

Finalmente, la vitamina D producida en la epidermis llega al lecho dérmico capilar, desde donde es transportada al hígado unida a la DBP para iniciar su transformación metabólica.

4. Metabolismo hepático y renal de la vitamina D (Figura 1)

La vitamina D_3 que se concentra en el hígado es rápidamente hidroxilada en el carbono 25 por la enzima vitamina D_3 25-hidroxilasa para obtener la 25(OH) vitamina D_3. Esta reacción de hidroxilación se produce indistintamente sobre el calciferol (vitamina D_3) y sobre el ergocalciferol (vitamina D_2). La vitamina D_3 25-hidroxilasa forma parte de un sistema enzimático dependiente de citocromo P-450, que se localiza principalmente en microsomas (aunque también se ha localizado un citocromo P-450 que cataliza esta actividad en mitocondrias hepáticas) y que requiere NADPH, oxígeno molecular e iones magnesio.

Es interesante señalar que la vitamina D_3 25-hidroxilasa puede actuar también sobre la 1α-hidroxivitamina D_2 y sobre la 1α-hidroxivitamina D_3. Estos derivados de la vitamina D se usan frecuentemente en el tratamiento de distintas patologías renales.

Una vez sintetizada, la 25(OH) vitamina D_3 es enviada a la circulación sistémica, donde es la forma predominante de vitamina D_3. De hecho, este metabolito es el que se determina cuando se estudian los niveles de vitamina D de un paciente.

La 25(OH) vitamina D_3 carece de actividad biológica, y ha de ser transportada al riñón, donde es nuevamente hidroxilada, para obtener los metabolitos activos: el calcitriol [1α,25$(OH)_2$ vitamina D_3] y el 24-R-calcitriol [24R,25$(OH)_2$ vitamina D_3]. Además de este destino metabólico, la 25(OH) vitamina D_3 puede dar lugar a derivados más oxidados que son inactivos, o bien puede ser excretada por vía biliar, sufriendo un ciclo enterohepático.

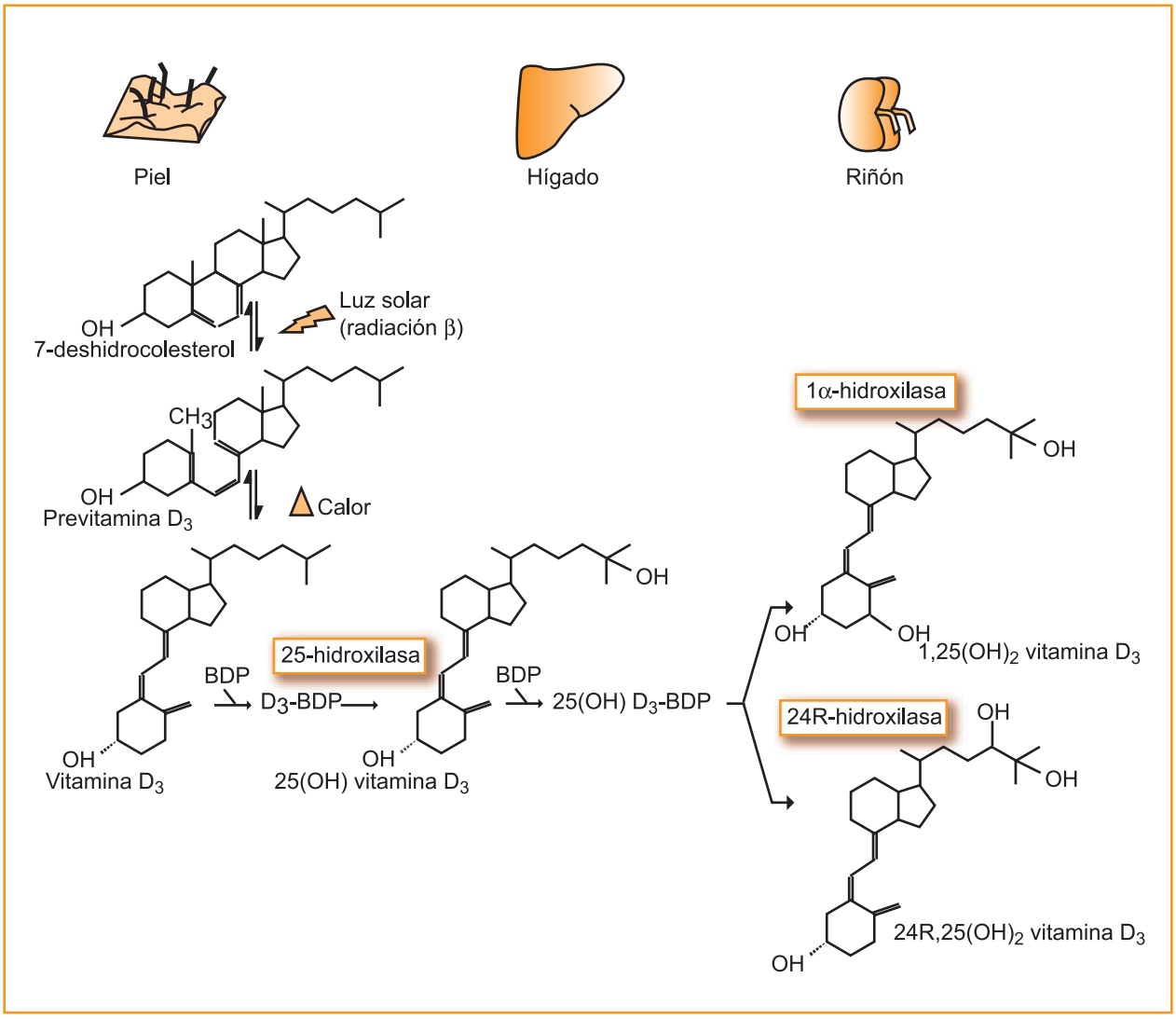


Figura 1. *Metabolismo de la vitamina D.*

La hidroxilación en riñón de la 25(OH) vitamina D_3 es llevada a cabo por dos enzimas, la 25(OH) vitamina D_3 1α-hidroxilasa y la vitamina D_3 24-hidroxilasa, que se encuentran localizadas principalmente en las células del túbulo contorneado proximal. Ambas enzimas son muy parecidas a la vitamina D_3 25-hidroxilasa, es decir, forman parte de un sistema enzimático en el que un citocromo P-450 cataliza la reacción de hidroxilación. No obstante, mientras que existe actividad 25(OH) vitamina D_3 1α-hidroxilasa en mitocondrias y microsomas renales, sólo se ha detectado actividad vitamina D_3 24-hidroxilasa en microsomas.

El calcitriol es producido principalmente por el riñón y, durante el embarazo, la placenta también secreta cantidades significativas de este metabolito. En los últimos años se ha descrito actividad 25(OH) vitamina D_3 1α-hidroxilasa en varios tipos de células de la piel, del colon, de la próstata, etc. Aunque aún no se entiende bien la función de esta producción extrarrenal de calcitriol, se cree que que podría ser importante en el control del crecimiento y la diferenciación celular *(ver apartado 11.2.1)*.

De igual modo, además de en el riñón, existe actividad 25(OH) vitamina D_3 24-hidroxilasa en la mucosa intestinal, el cartílago y otros tejidos que con-

tienen receptores para el calcitriol. Posiblemente, esta actividad sea útil en la regulación de la actividad de esta forma de la vitamina D, ya que la 24-hidroxilación es la principal vía para su inactivación.

El exceso de vitamina D_3 se almacena en el tejido adiposo, al que llega transportada por la DBP, aunque, como ya se ha comentado anteriormente, el mayor depósito-almacén corporal de la vitamina D es el plasma.

5. Inactivación y excreción de la vitamina D

La bilis es la principal vía de excreción de metabolitos de la vitamina D, aunque una cantidad muy pequeña puede ser excretada por la orina (menos del 5%). En la bilis sólo un 2-3% de la vitamina D está en forma de colecalciferol, 25(OH) vitamina D_3 o calcitriol, siendo predominantes una serie de metabolitos hidroxilados y polares, y sus conjugados con ácido glucurónico.

En la mayoría de los tejidos, la principal vía de inactivación del calcitriol se inicia con su 24-hidroxilación para después ser transformado mediante diversas oxidaciones, y en algunos casos conjugación con glucurónico, en compuestos más polares.

Los compuestos que inducen hidroxilasas dependientes de citocromo P-450, como los barbitúricos y los anticonvulsivantes primidona y difenilhidantoína, provocan un incremento en la degradación de 25(OH) vitamina D_3 y en la excreción de metabolitos de la vitamina D por vía biliar. Como resultado, el uso prolongado de anticonvulsivantes puede asociarse con el desarrollo de deficiencia de vitamina D. Además, los barbitúricos producen también la inducción de la 25-hidroxilasa incrementando, por tanto, la hidroxilación de la vitamina D_3.

6. Control de la síntesis y degradación de vitamina D (Figura 2)

Aunque el riñón produce las dos formas activas dihidroxiladas de la vitamina D_3 (calcitriol y 24-R-calcitriol), el calcitriol es el metabolito más activo; por tanto, no es de extrañar que su concentración circulante esté muy controlada. La enzima clave en la regulación es la 25(OH) vitamina D_3 1α-hidroxilasa.

La predominancia en la síntesis de una forma u otra de vitamina D_3 viene determinada por los niveles circulantes de hormona paratiroidea **(PTH)** y por el estatus corporal de vitamina D. Así, cuando existe deficiencia de vitamina D o los niveles de calcio son bajos, se produce un incremento de la PTH que actúa:

1. Incrementando la transcripción de la 1α-hidroxilasa y, por tanto, su actividad, dando lugar a un incremento de la síntesis de calcitriol.

2. Inhibiendo la 24-hidroxilasa, disminuyendo por tanto la producción de 24-R-calcitriol y desplazando el equilibrio hacia la síntesis preferente de calcitriol.

La inhibición de la 24-hidroxilasa se debe a que la PTH produce una disminución en el RNA mensajero de esta enzima al disminuir su vida media.

Por el contrario, cuando el estatus de vitamina D es adecuado, los niveles de PTH son bajos y los de calcitriol altos, por lo que se produce un *feedback* negativo de este metabolito sobre la 25(OH) vitamina D_3 1α-hidroxilasa, el cual reduce lógicamente los niveles de calcitriol. Además, el calcitriol es capaz de inducir la vitamina D_3 24-hidroxilasa, lo que produce un incremento del 24-R-calcitriol, así como una inactivación del calcitriol mediante su transformación metabólica en 1α,24R,25$(OH)_3$ vitamina D_3. Se ha descrito que el calcitriol puede incrementar la expresión de la vitamina D_3 24-hidroxilasa de dos formas diferentes:

1. Inducción rápida mediante la activación de factores de transcripción a través de la proteína kinasa C **(PKC)** y las proteína kinasas activadas por mitógenos (***M**itogen **A**ctivated **P**rotein **K**inases*, ***MAPK***).

2. Inducción lenta mediante unión al receptor nuclear de vitamina D (VDRnuc1,25) *(ver apartado 10.1)*.

De hecho, la 24-hidroxilasa posee en su promotor dos elementos de respuesta al VDR. Este hecho es cierto para casi todos los tipos de células que se han estudiado excepto para los osteoblastos, en los que se ha descubierto que la PTH es capaz de aumentar la actividad de la 24-hidroxilasa.

La regulación de la 25(OH) vitamina D_3 1α-hidroxilasa por la PTH y por el calcitriol se produce

también a nivel de su expresión génica. De hecho, el promotor de esta enzima contiene tres sitios potenciales de unión de AMP cíclico **(AMPc)** y se ha demostrado que la PTH es capaz de incrementar la expresión de la enzima a través de un mecanismo dependiente de AMPc. Además, la PTH es capaz de activar a la proteína kinasa A y modificar la actividad de factores de transcripción fosforilándolos. Estos factores de transcripción inducirán la expresión de esta enzima. Por otra parte, el *feed-back* negativo del calcitriol sobre la 25(OH) vitamina D_3 1α-hidroxilasa se produce mediante la unión del calcitriol al receptor nuclear de vitamina D (VDRnuc1,25) *(ver más adelante)*, lo que produce la inhibición de la transcripción de la enzima.

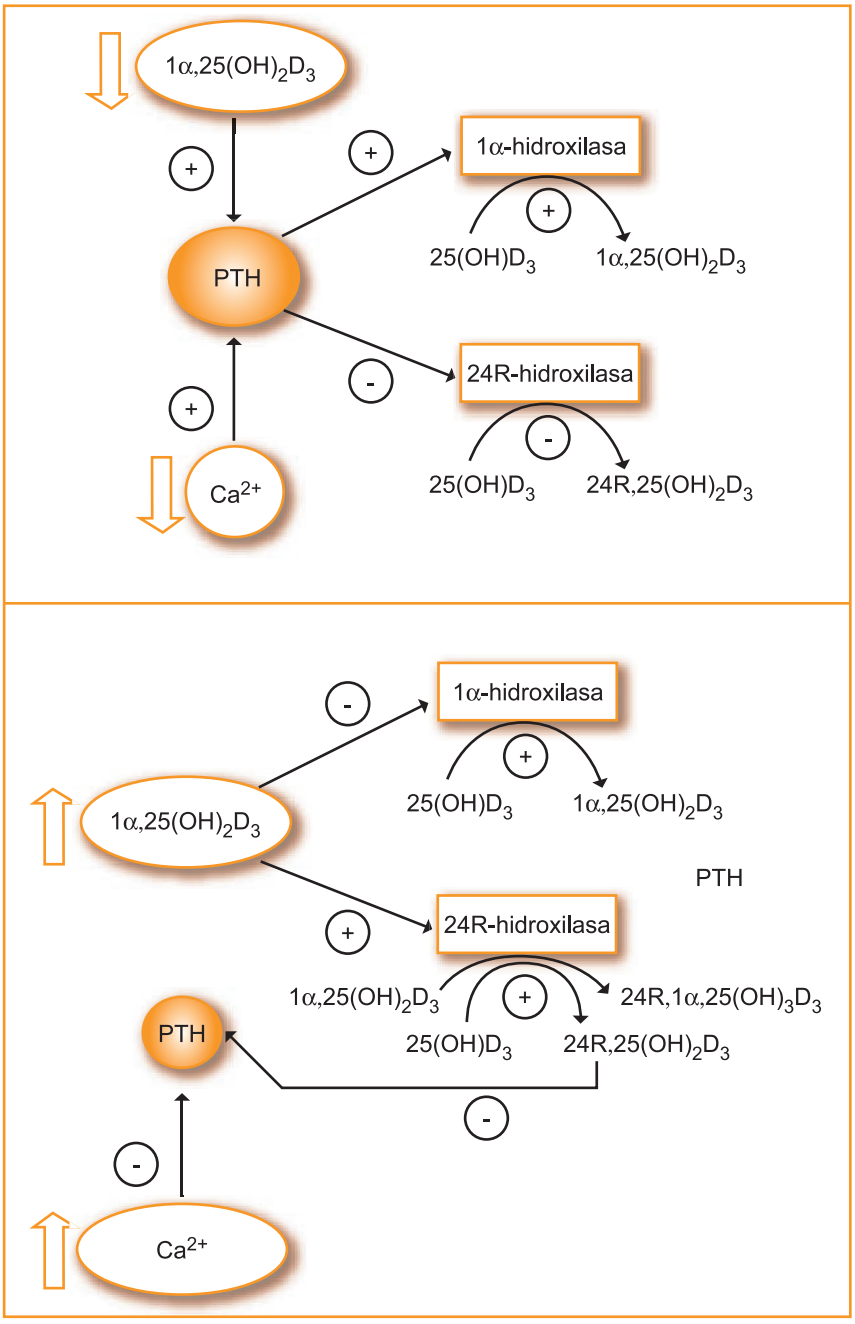


Figura 2. *Control de la síntesis y degradación de la vitamina D.*

7. Fuentes de vitamina D

La principal fuente de vitamina D para la mayoría de los humanos es la endógena mediante exposición diaria a la luz del sol. Sin embargo, multitud de factores pueden disminuir e incluso suprimir la producción de vitamina D endógena. Así, la ingesta de calcio y fósforo, la edad, el sexo o la cantidad de pigmentación de la piel pueden influir en la síntesis de vitamina D. Además, el grado de exposición al sol, que varía con la aplicación tópica de pantallas solares, la contaminación atmosférica, la tendencia a vivir en ciudades cuyos elevados edificios pueden obstaculizar la radiación del sol, la tendencia a habitar en interiores o vivir en regiones geográficas del mundo que no reciben suficiente cantidad de luz solar son factores que pueden contribuir a que la piel encuentre dificultades para la síntesis de vitamina D_3.

De los factores comentados, el que tiene más importancia general en la producción de vitamina D_3 es el ángulo de incidencia de la radiación solar. Por tanto, la latitud, la estación del año y la hora del día

afectan a la síntesis de vitamina D_3. Así, cuanto más lejos se esté del ecuador, menor es la porción del año en la que la radiación solar es suficiente para la fotoconversión del 7-deshidrocolesterol. Esto es debido a que las ondas UV-B procedentes del sol son absorbidas cuando pasan a través de la atmósfera; a mayor latitud el ángulo de los rayos del sol es mayor y por tanto el camino a través de la atmósfera es más largo y llegará menos UV-B a la superficie de la tierra. Por ejemplo, en Vigo (42,14 °N) el ángulo de incidencia del sol es tan oblicuo en invierno que muy pocos fotones de radiación UV-B con la energía necesaria llegan a la superficie de la tierra. Por tanto, en Vigo durante los meses de noviembre a febrero se sintetizará muy poca vitamina D_3 en la piel. Por el contrario, en Algeciras el ángulo es menos oblicuo a lo largo del año, por lo que la producción de vitamina D_3 ocurrirá durante casi todo el año. Como regla general, en latitudes por encima de 40 grados al norte y al sur del ecuador la producción de vitamina D_3 en la piel está significativamente disminuida o es inexistente durante el invierno.

La vitamina D_3 es particularmente abundante en productos animales, concretamente en los pescados marinos grasos, como los arenques, el salmón o las sardinas. También se encuentra en aceites de hígado de pescado como el de hígado de bacalao. Además, los huevos, la carne bovina, la mantequilla y los aceites vegetales contienen pequeñas cantidades de vitamina D_3 **(Tabla 2)**, mientras que las plantas, las frutas y los frutos secos son muy pobres en esta vitamina. En todos los casos, la vitamina D presente en los alimentos es estable y no es destruida por el calor ni por procesos tecnológicos.

En general, cuando las vitaminas son adicionadas a alimentos de uso general, como la leche, el pan o la margarina, con objeto de asegurar una ingesta adecuada, se habla de fortificación. Por el contrario, cuando las vitaminas se añaden para restaurar las pérdidas ocurridas durante el procesado, se habla de enriquecimiento vitamínico. Varios países, incluyendo Estados Unidos, Canadá y algunos países de Europa, fortifican con vitamina D alimentos como la leche, la margarina, los cereales, algunos panes y pastas o el zumo de naranja. En España, gran parte de la leche desnatada o semidesnatada se enriquece con vitaminas A y D.

La adición de complejos multivitamínicos es obligatoria para algunos productos utilizados durante largo tiempo como nutriente único por algunas poblaciones; tal es el caso de las fórmulas lácteas, los cereales infantiles y los productos para nutrición enteral y parenteral de uso predominantemente hospitalario, además de la dietas de bajo valor energético para reducción de peso. La **Tabla 3** recoge las recomendaciones de la Unión Europea para la suplementación con vitamina D_3 de distintos preparados. Estas recomendaciones son de obligado cumplimiento para todos los Estados miembros.

En general la vitamina D se adiciona a los alimentos en forma de ergocalciferol (vitamina D_2) obtenido mediante radiación del ergosterol. Éste, a su vez, se obtiene por vía microbiológica en biorreactores.

8. Requerimientos nutricionales de vitamina D

Debido a que la principal fuente de vitamina D es la derivada de la síntesis endógena en la piel, la determinación de los requerimientos o del aporte recomendado de vitamina D es difícil, ya que cuando la radiación solar es suficiente la vitamina D exógena es innecesaria. Además, los requerimientos de vitamina D varían en función de los parámetros antes comentados (ingesta de calcio y fósforo, edad, sexo, grado de exposición al sol, cantidad de pigmentación de la piel, etc.).

La Organización Mundial de la Salud define la unidad internacional (UI) de vitamina D_3 como la actividad vitamínica de 0,025 mg de la preparación de referencia internacional de vitamina D cristalizada. Es decir, 1 UI de vitamina D_3 equivale a 0,025 mg, lo que, a su vez, equivale a 65 pmol. Cuando se descubrió el metabolismo de la vitamina D_3 se recomendó que una unidad de calcitriol fuera considerada como el equivalente molar de una unidad de vitamina D_3. Por tanto, una unidad de $1\alpha,25(OH)_2$ vitamina D_3 equivale a 65 pmoles.

En 1997 el Comité de Alimentos y Nutrición del Instituto de Medicina (***I**nstitute **o**f **M**edicine*, ***IOM***) de la Academia Nacional de Ciencias Americana instituyó las siguientes ingestas diarias recomendadas de vitamina D.

1. De 0 a 1 año. En la leche materna hay niveles relativamente bajos de vitamina D, excepto cuando se suplementa la dieta de la madre con

Tabla 2. CONTENIDO EN VITAMINA D DE DISTINTOS ALIMENTOS (μg/100 g)

Cereales	
Semillas, harinas, almidones	0
Leche y productos lácteos	
Leche de vaca	0,01-0,03
Leche humana	0,04
Leche en polvo	0,21
Nata	0,1-0,28
Queso	0,03-0,5
Yogur	Trazas-0,04
Huevos	
Completos	1,75
Yema	4,94
Grasas y aceites	
Mantequilla	1,00-3,00
Aceite de hígado de bacalao	330,00
Carne y productos cárnicos	
Ternera, vaca, cerdo, cordero	Trazas
Pollo, gallina	Trazas
Hígado	0,2-1,1
Pescado	
Pescado blanco	Trazas
Pescado graso	Trazas-27,00
Salmón	16,00
Arenque	27,00
Anguila	20,00
Crustáceos o moluscos	Trazas
Vegetales	0

grandes dosis de vitamina D, por lo que los niños alimentados al pecho son propensos a desarrollar deficiencia de vitamina D. Dado que las fórmulas infantiles están normalmente suplementadas con vitamina D, los niños alimentados de esta forma suelen recibir cantidades adecuadas de esta vitamina. El IOM recomienda como ingesta adecuada diaria para niños 200-400 UI/día, aunque se ha demostrado que ingestas de 100 UI/día son suficientes para prevenir la aparición de raquitismo en niños que se exponen frecuentemente al sol.

2. De 1 a 18 años. Los niños y adolescentes necesitan la vitamina D para el desarrollo óptimo del esqueleto y la mineralización ósea. La mayoría de los niños reciben suficiente radiación solar, lo que ayuda a asegurar niveles adecuados de vitamina D. No obstante, los niños con alta pigmentación cutánea y aquellos que reciben poca luz solar son grupos de riesgo de deficiencia en vitamina D. La IOM aconseja una ingesta diaria de 200 UI/día para niños que están adecuadamente expuestos a la luz solar, y de 400 UI/día para el resto.

3. De 19 a 50 años. La IOM aconseja una ingesta diaria adecuada de 200 UI/día. Se considera que una ingesta de 400 UI/día sería también razonable y no causaría ningún efecto adverso.

Tabla 3. RECOMENDACIONES DE LA UNIÓN EUROPEA PARA LA SUPLEMENTACIÓN CON VITAMINA D DE DISTINTOS PREPARADOS (μg/100 kcal)

	Mínimo	Máximo
Preparados para lactantes	1	2,5
Preparados de continuación para lactantes	1	3
Alimentos de uso médico especiales para lactantes	1	2,5
Alimentos de uso médico especiales para niños y adultos	0,5	3

4. De 51 a 70 años. La ingesta diaria recomendada para este grupo de edad es de 400 UI/día. Esta ingesta puede ser incrementada hasta 600 UI/día en individuos que no están expuestos a la luz solar.

5. Mayores de 71 años. La edad disminuye la capacidad de producir vitamina D_3 porque disminuye la concentración de su precursor, el 7-deshidrocolesterol; además, se calcula que la capacidad de producir vitamina D_3 en la piel de una persona de 65 años es 3-4 veces menor que la capacidad de la piel de un adulto joven saludable. A estos hechos hay que añadir que la edad disminuye la capacidad renal de hidroxilación de la 25(OH) vitamina D_3. Los ancianos de países industrializados son, por tanto, un grupo de riesgo de deficiencia de vitamina D. En función de lo anteriormente expuesto, el Comité de Alimentos y Nutrición triplicó en 1997 la ingesta adecuada establecida en 1989 para individuos mayores de 70 años (de 200 UI a 600 UI).

6. Embarazo y lactancia. Aunque cabría pensar que el embarazo y la lactancia deberían incrementar los requerimientos de vitamina D, no existen datos suficientes en la literatura que avalen esta hipótesis. Por tanto, se considera la ingesta adecuada durante la lactancia y el embarazo de 200 UI/día. No obstante, podría ser razonable incrementar esta cantidad hasta 400 UI/día, que es la cantidad proporcionada en los suplementos dietéticos prenatales.

8.1. Ingesta máxima tolerada de vitamina D

Aunque el consumo excesivo de vitamina D en la dieta es poco probable, a menos que se consuman grandes cantidades de hígado de bacalao, no es descartable que se produzcan ingestas altas procedentes de suplementos vitamínicos. El Comité de Alimentos y Nutrición del Instituto de Medicina Americano considera que una ingesta de 1.000 UI/día para niños menores de 12 meses y de 2.000 UI/día para niños mayores de 1 año, adultos, embarazadas o madres lactantes puede ser la ingesta máxima tolerada. Dosis excesivas de vitamina D (1.000 UI/día en niños y 50.000 UI/día en adultos, más de 25 veces las dosis usuales en adultos) producen hipercalcemia y, como consecuencia de ésta, el calcio se deposita en los tejidos blandos como el riñón y el cerebro, con producción de hipertensión arterial e insuficiencia renal. La administración continuada de dosis tóxicas puede incluso producir la muerte.

Los síntomas de sobredosis moderada de vitamina D pueden incluir náuseas, vómitos, anorexia, fatiga, poliuria y cefaleas. Además, el exceso de vitamina D en sangre puede producir cambios en el estado mental como confusión.

9. Mecanismo de acción de la vitamina D

9.1. Receptores de vitamina D (Figura 3)

Los metabolitos de la vitamina D (el calcitriol y el 24-R-calcitriol) producidos en el túbulo proximal del riñón se unen a la DBP para ser transportados hasta los órganos diana de la vitamina D. Estos órganos diana están definidos por la presencia de tres receptores distintos. Así, el calcitriol [1α,25(OH)$_2$ vitamina D_3] se puede unir al

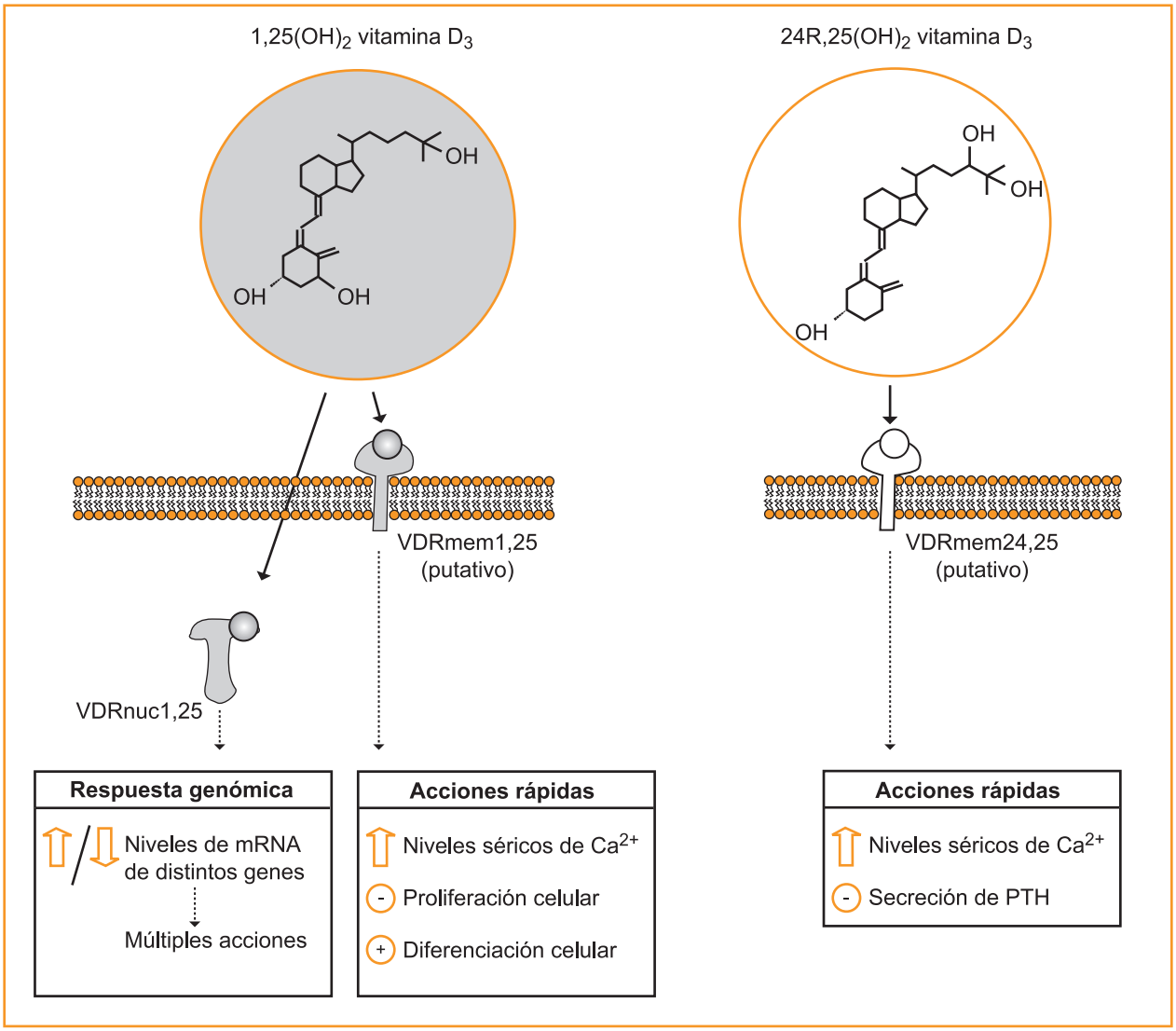


Figura 3. *Receptores de la vitamina D.*

receptor nuclear de vitamina D (***Vitamin D Receptor***, ***VDRnuc***) y al receptor de membrana de vitamina D **(VDRmem1,25)**. Por su parte, el 24-R-calcitriol [24R,25(OH)$_2$ vitamina D$_3$] se une a otro receptor de membrana denominado **VDRmem24,25**.

En general, la función del receptor nuclear está relacionada con la respuesta genómica a nivel transcripcional, mientras que los receptores de membrana median las llamadas respuestas biológicas rápidas (no transcripcionales) de la vitamina D, que implican la estimulación de cascadas de transducción de señal. De hecho, estos receptores de membrana pertenecen a un grupo de proteínas o complejos de unión a esteroides asociados a membranas que median respuestas biológicas rápidas [***M**embrane **A**ssociated, **R**apid **R**esponse **S**teroid (**MARRS**) binding proteins or complexes*].

Una de las características más importantes del calciferol es su capacidad de generar una gran variedad de conformaciones al ser una molécula muy flexible. Así, la unión del calcitriol al receptor de membrana o al receptor nuclear depende de la capacidad de este ligando de generar diferentes formas que satisfacen específicamente los requerimientos de cada receptor.

9.1.1. Receptor de membrana del 24-R-calcitriol (VDRmem24,25)

La distribución tisular del receptor VDRmem24,25 es muy específica, ya que se limita a las células del hueso y el cartílago, y posiblemente a las células secretoras de la hormona paratiroidea.

Los efectos biológicos del 24-R-calcitriol han sido estudiados principalmente en animales y en células en cultivo. Los efectos más sobresalientes incluyen, a nivel de glándulas paratiroideas, la inhibición de la secreción de la hormona PTH y la regresión de glándulas paratiroideas hipertrofiadas en animales hipocalcémicos deficientes en vitamina D. En relación con el hueso, se ha descrito en pollos que la administración local de 24-R-calcitriol puede curar las lesiones producidas por el raquitismo y que esta forma de vitamina D_3 interviene en la curación de fracturas. De hecho, varios días después de producirse una fractura se ha detectado que la actividad 24R-hidroxilasa renal se encuentra incrementada en modelos de fracturas óseas que utilizan pájaros y pollos. Además, en varios modelos animales se ha observado que esta vitamina incrementa la masa ósea e incrementa la resistencia del hueso en conejos.

Por último, se ha descrito que el 24-R-calcitriol produce la activación de condrocitos de la zona de descanso en cultivo (*ver apartado 11.1.2*). Las vías de señalización desde el receptor VDRmem24,25 están comenzando a ser estudiadas y ya se ha descrito que en la activación de estas células de la zona de descanso del cartílago por el 24-R-calcitriol interviene la activación de la proteína kinasa D (PKD) asociada al VDRmem24,25. La activación de esta proteína kinasa produce la inactivación de la PKC y de MAPK, produciendo efectos a nivel genómico y no genómico.

9.1.2. Receptor de membrana del calcitriol (VDRmem1,25)

La idea de que algunas de las acciones del calcitriol debían estar mediadas por un receptor de membrana fue propuesta originalmente en 1984. Posteriormente, en 1994 se aisló una proteína de unos 60 kDa a la que se unía este metabolito. Desde entonces, varios laboratorios han mostrado pruebas de la existencia de este receptor en distintos tipos de células, aunque hasta la fecha la proteína correspondiente al VDRmem1,25 no ha sido aislada, por lo que debe ser denominada putativa.

Al contrario que el VDRmem24,25 el VDRmem1,25 es un receptor ampliamente distribuido en gran variedad de tejidos donde media gran cantidad de respuestas biológicas denominadas rápidas, mediante la estimulación de una gran variedad de sistemas de señalización celular. Los principales efectos de la respuesta rápida inducida por el calcitriol son la estimulación de la absorción de calcio tanto a nivel intestinal como en osteoblastos además de la inhibición de la proliferación celular y la inducción de la diferenciación en distintos tipos de células como osteoblastos, keratinocitos y colonocitos.

El calcitriol actúa vía VDRmem1,25, produciendo un incremento rápido (en minutos) en la absorción de calcio y en la concentración intracelular del mismo, mediante el incremento de su entrada a través de canales de calcio y mediante la liberación del calcio intracelular. Estos mecanismos están relacionados, ya que la entrada de calcio produce la hidrólisis de lípidos de membrana mediada por proteínas G, fosfolipasa C y fosfolipasa D, produciendo la liberación de segundos mensajeros (IP3 y/o DAG), que a su vez producen la liberación del calcio de los depósitos intracelulares y la activación de cascadas de señalización intracelular mediadas por PKC y MAPK (*ver Capítulo 1.5*). El incremento de la entrada de calcio podría estar relacionado con un incremento de las actividades de la adenilato ciclasa y de la proteína kinasa A **(Figura 4)**.

Por otra parte, el calciferol es capaz de activar la PKC por unión directa a la enzima y mediante la unión a sus receptores de membrana, que a su vez se encuentran asociados a fosfolipasa y PKC **(Figura 4)**; en respuesta al calcitriol se producen cambios rápidos en la liberación de ácido araquidónico y en su reincorporación a los fosfolípidos de la membrana, además de incrementos en la síntesis de prostaglandinas E1 y E2.

Las MAPK pertenecen a la familia de proteínas con actividad serina/treonina kinasa que contienen serina o treonina y que pueden ser activadas, mediante fosforilación de un residuo de treonina, por mitógenos o agentes promotores de la

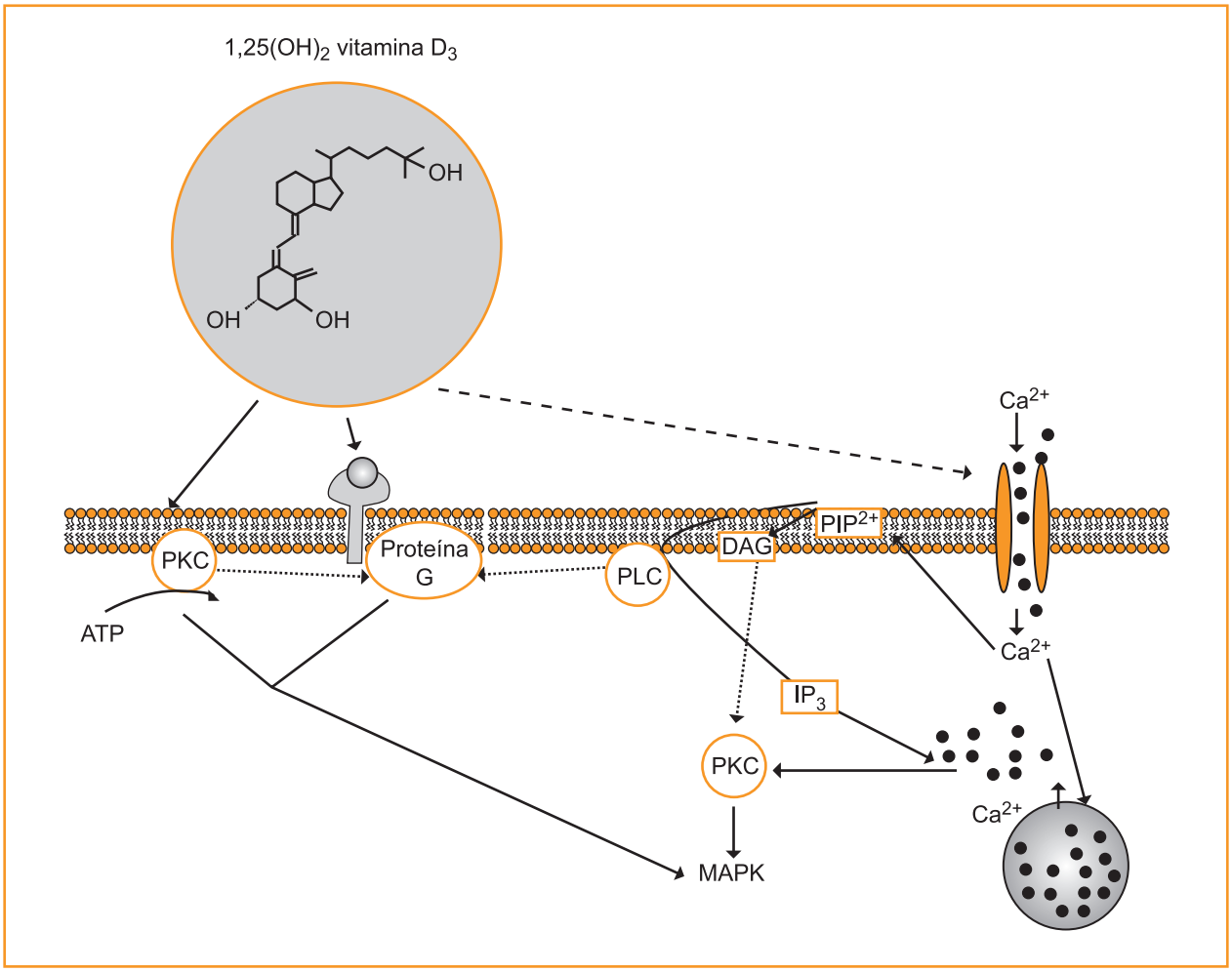


Figura 4. *Mecanismo de acción del receptor de membrana del calcitriol.*

diferenciación celular (*ver Capítulo 1.32*). Estas kinasas forman parte de las vías de transducción de señal mediadas por varios segundos mensajeros, entre ellos la PKC, que regulan muchas funciones celulares mediante la fosforilación de kinasas citoplasmáticas y la regulación de factores nucleares de transcripción como el receptor del factor de crecimiento epidérmico u oncogenes como *c-myc* y *c-jun*. El calcitriol produce la activación de MAPK. Recientemente se ha postulado que estas kinasas podrían jugar un papel importante en la transducción de señal mediada por el calcitriol desde la membrana al núcleo. De este modo, el calcitriol mediante su acción rápida podría modular las repuestas genómicas que tienen como efecto final la inhibición de la proliferación celular y la inducción de la diferenciación.

9.1.3. Receptor nuclear del calcitriol (VDRnuc1,25)

El receptor nuclear de vitamina D (*vitamin D receptor*, VDRnuc1,25) pertenece a la superfamilia de factores de transcripción activados por ligandos, con los que comparte mecanismo de acción y estructura *(ver Capítulo 1.7)*. A esta superfamilia de receptores pertenecen también los receptores nucleares de estrógenos, andrógenos, mineralocorticoides, glucocorticoides, hormonas tiroideas y vitamina A. La activación de estos factores de transcripción se produce mediante la unión de ligandos específicos que, por su pequeño tamaño y por su naturaleza lipofílica, son capaces de difundir a través de la membrana celular. Una vez unido al ligando, cambia la conformación del receptor que

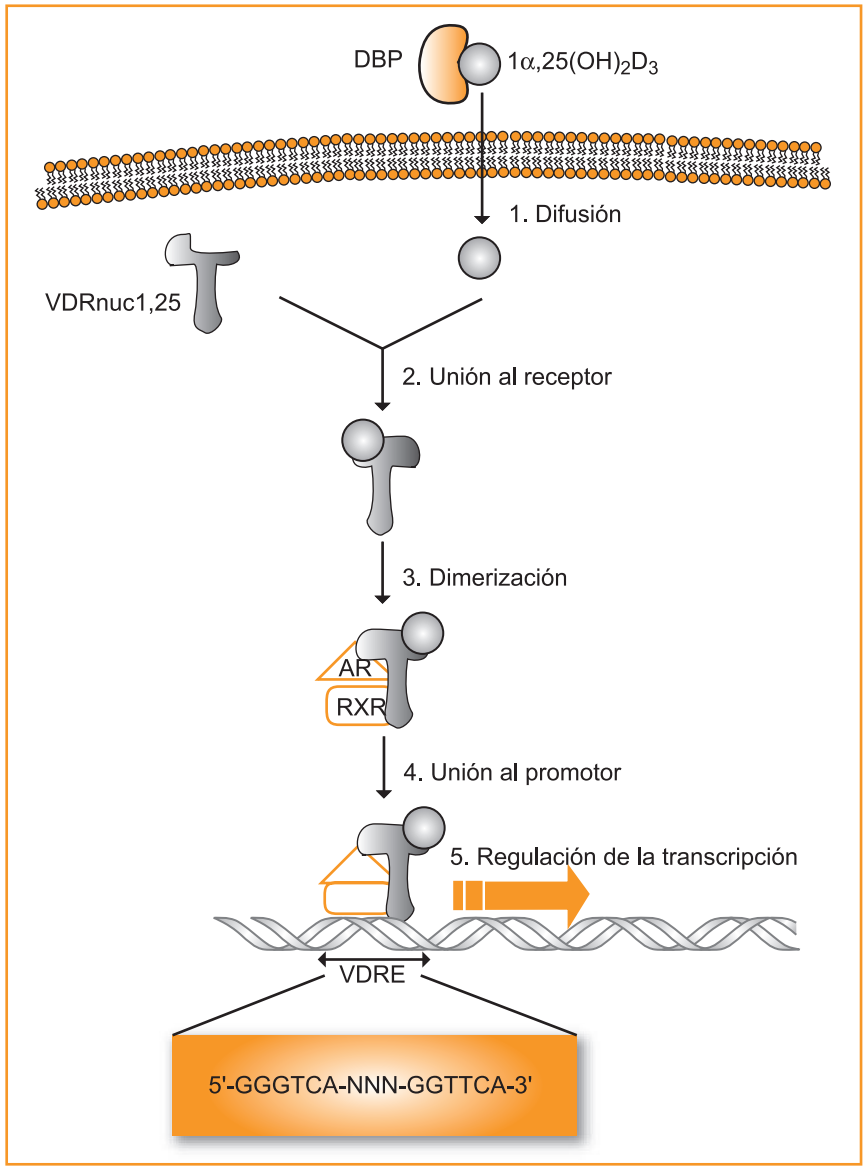


Figura 5. *Mecanismo de acción del receptor nuclear del calcitriol.*

se dimeriza y se une en el núcleo a secuencias específicas, denominadas elementos de respuesta, situadas típicamente en los promotores cuya transcripción van a modular **(Figura 5)**.

La dimerización del VDRnuc1,25 se produce con el receptor X del ácido retinoico (***R**etinoic **X** **R**eceptor*, ***RXR***) perteneciente también a la superfamilia de factores de transcripción con respuesta a ligandos y es necesaria para que la unión del VDRnuc1,25 a su elemento de respuesta sea de alta afinidad. Como se ha indicado anteriormente, el ligando del VDRnuc1,25 es el calcitriol, mientras que el ligando del RXR es el ácido todo-*trans*-retinoico **(Figura 5)**.

El elemento de respuesta al que se une el dímero VDR-RXR se denomina elemento de respuesta a vitamina D (***V**itamin **D**-**R**esponsive **E**lement*, ***VDRE***) y está constituido por dos repeticiones directas imperfectas de una secuencia de hexanucleótidos separadas por tres nucleótidos. Por tanto, la secuencia consenso del VDRE sería la siguiente: 5´-GGGTCA-NNN-GGTTCA-3´. Obviamente, los promotores de los genes modulados por esta vitamina poseen VDRE que contienen variaciones en esta secuencia consenso **(Figura 5)**.

9.1.3.1. El gen del VDRnuc1,25 humano (hVDRnuc1,25)

Es bien conocido que mutaciones específicas en el DNA del *hVDRnuc1,25* causan raquitismo resistente a vitamina D, una enfermedad autosómica recesiva poco frecuente, también conocida como raquitismo tipo II dependiente de vitamina D (*ver apartado 13.4*). Se han descrito distintas mutaciones en la secuencia de DNA del *hVDRnuc1,25* que son responsables de esta enfermedad y que afectan tanto a la unión del receptor a su ligando como a la localización nuclear del complejo hormona-receptor, a la unión del receptor a su secuencia diana o a la unión del receptor a un coactivador. De hecho, recientemente se ha demostrado en pacientes con mutaciones en el VDR que afectaban al dominio de unión al ligando que el tratamiento con análogos del calcitriol puede en parte o totalmente restaurar la respuesta del VDR mutado, sugiriendo la posibilidad de tratar a pacientes seleccionados con estos análogos.

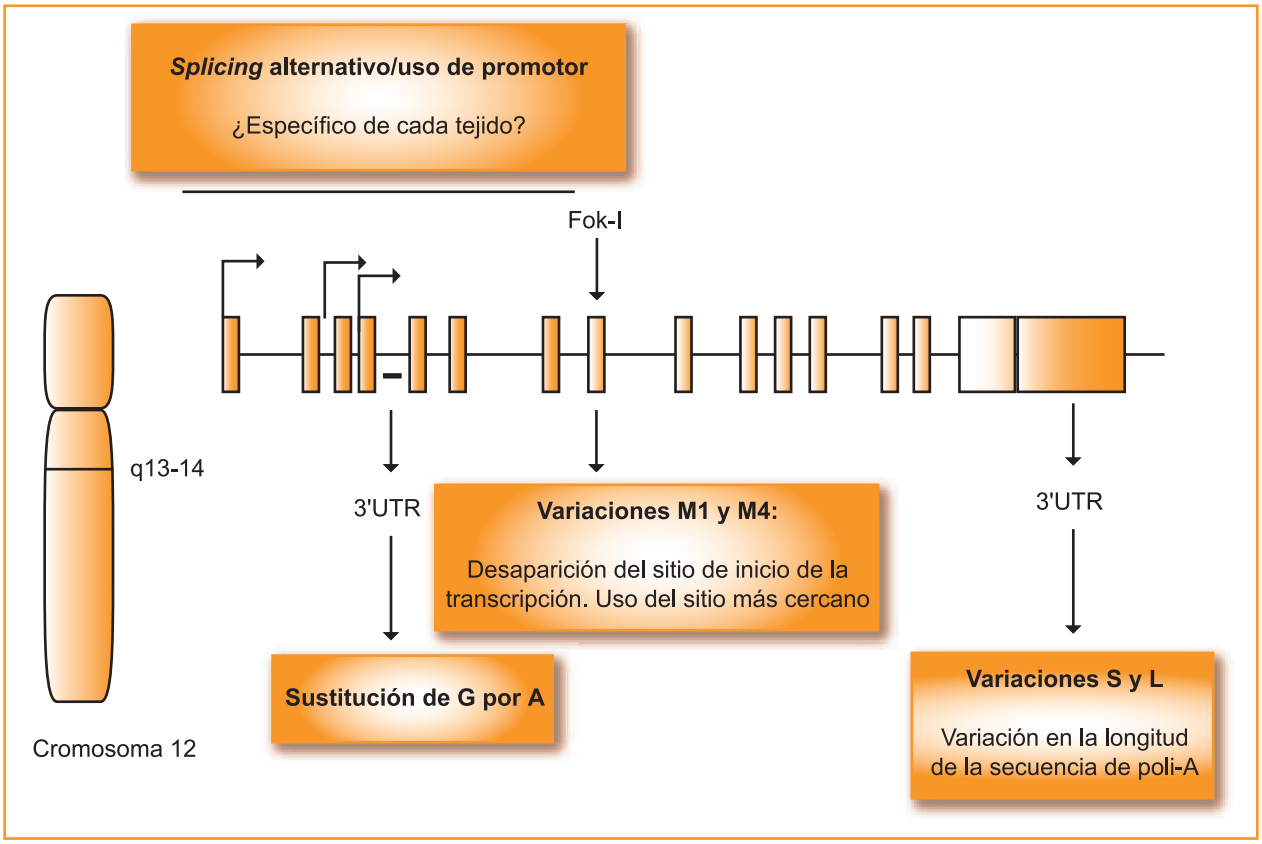


Figura 6. *Polimorfismos funcionales del gen humano del receptor nuclear del calcitriol.*

Además, se ha descrito que existen otras variaciones en los alelos de este gen que se producen con mucha más frecuencia y podrían influir en el metabolismo del calcio y el fósforo y predisponer genéticamente al padecimiento de ciertas enfermedades, especialmente enfermedades óseas como la osteoporosis. Estudios llevados a cabo al principio de la década de los 90 del siglo pasado demostraron la relación génetica entre el receptor VDR y la densidad mineral ósea. En estos estudios se observó que los niveles séricos de osteocalcina se correlacionan positivamente con la densidad ósea y dependen de variaciones alélicas en el gen del VDR. La síntesis de osteocalcina, la proteína de tipo no colágeno más abundante en el hueso, es inducida por unión del complejo calcitriol-hVDRnuc1,25 a una secuencia VDRE presente en el promotor de este gen. Además, en 1992 un estudio describió, en un grupo de gemelos australianos monocigotos y heterocigotos, que la existencia de una variación polimórfica en la región 3' del gen *hVDRnuc1,25* podía suponer variaciones de hasta el 75% en la densidad mineral ósea. Las mutaciones descritas en este trabajo inicial eran mutaciones en un intrón o mutaciones silenciosas, por lo que actualmente se piensa que los polimorfismos descritos pueden servir como marcadores de otro polimorfismo funcional en el gen del *hVDR* o de un gen próximo.

Hasta ahora se han descrito tres posibles polimorfismos funcionales en el gen del *hVDR* **(Figura 6)**. El primero se encuentra situado en la región 3' no traducida del RNA mensajero de este receptor y consiste en la existencia de una región poli-A situada aproximadamente 1 kb corriente arriba de la señal de poliadenilación. Se han descrito variaciones alélicas múltiples (alrededor de 12) en la longitud de esta secuencia que podrían afectar a la estabilidad o eficiencia de traducción de este RNA mensajero. En función de su longitud estas variaciones han sido clasificadas como largas (L) y cortas (S), y varios estudios han demostrado que el alelo L del *hVDR* es más activo en fibroblastos humanos.

Un segundo polimorfismo se ha localizado en el sitio de inicio de la traducción del gen del *hVDRnuc1,25*. En este caso, la presencia de una sustitución (T por C) en el exón 2 elimina el sitio de inicio de la traducción (el primer ATG), por lo que se utiliza el segundo situado a 9 pares de bases. Por tanto, aparecen dos proteínas distintas de VDRnuc1,25 que diferen en 3 aminoácidos y que han sido denominadas M1 y M4, según contengan 427 o 424 aminoácidos respectivamente. Se ha demostrado que la isoforma M4 se traduce más activamente que la M1, probablemente porque el mRNA interaccione mejor con la proteína TFIIB del complejo basal de inicio de la traducción. Este polimorfismo puede ser detectado mediante la técnica de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (***R**estriction **F**ragment **L**ength **P**olymorphysm*, ***RFLP***), ya que la presencia de un sitio de corte para la enzima de restricción Fok-I indica que es la isoforma M1 la que está siendo expresada, mientras que este sitio de corte se pierde cuando es la isoforma M4 la que se expresa.

Por último, se ha detectado un tercer polimorfismo con posible relevancia funcional entre dos exones que codifican parte de la región 5' no traducida del gen del *hVDRnuc1,25*. En este caso, se produce una sustitución de G por A en el elemento de unión de un factor de transcripción denominado Cdx-2. Se ha observado que la presencia del nucleótido de adenina en esta posición está relacionada con una mayor actividad del *VDRnuc1,25*. En relación con esta observación, se ha descrito una menor densidad mineral ósea en mujeres japonesas, postmenopáusicas y homocigotas GG, coincidente con una menor capacidad de transactivación del alelo G. Estos hechos podrían explicarse teniendo en cuenta que la presencia del nucleótido de adenina hace que la homología con el sitio de unión a DNA del Cdx-2 sea mayor.

En resumen, podría decirse que está claro que existen múltiples variaciones polimórficas en el gen del *VDRnuc1,25* que tienen distintos tipos de consecuencias. Así, las alteraciones descritas en el promotor y el extremo 5' pueden afectar a los niveles de expresión del gen, además de a la eficiencia de la traducción, mientras que los polimorfismos descritos en el extremo 3' no traducido pueden afectar a la estabilidad del RNA mensajero y/o a la eficiencia de la traducción de la proteína. La combinación de estas diferencias genotípicas daría lugar a variaciones en los niveles de la proteína del *VDRnuc1,25* y/o en su función, dependiendo del individuo, del tipo de célula, del estado de desarrollo y del estado de activación. No obstante, es necesario describir mejor la función de estos polimorfismos y su asociación con funciones biológicas y con la etiología de enfermedades como la osteoporosis. Además, es muy probable que en los próximos años se describan más polimorfismos funcionales en este gen.

Además de los polimorfismos y de las mutaciones descritos previamente, la variación genética en la expresión del *VDRnuc1,25* y su expresión específica en distintos tejidos puede ser explicada teniendo en cuenta que este gen tiene un promotor muy extenso capaz de generar múltiples tránscritos mediante procesos alternativos de corte y empalme (*splicing* alternativo) a nivel del extremo 5'. Dos de estos tránscritos contienen sitios alternativos de inicio de la traducción, por lo que potencialmente podrían dar lugar a la presencia de aminoácidos adicionales en la proteína del *hVDRnuc1,25*. No obstante, será necesario definir en un futuro la funcionalidad de estas isoformas así como su distribución tisular.

9.1.3.2. Estructura proteica del VDR humano y su regulación mediante fosforilación

En cuanto a su estructura, el VDRnuc1,25 humano (hVDRnuc1,25), al igual que los demás receptores de esta superfamilia, posee en su estructura primaria diferentes dominios que reflejan a nivel estructural las acciones del receptor en respuesta a su ligando. Así, este receptor posee un dominio de unión a DNA en su extremo amino terminal, un dominio de unión al ligando en su extremo carboxilo terminal y un dominio de heterodimerización con el RXR que se encuentra disperso en subregiones del dominio de unión a DNA y del dominio de unión al ligando **(Figura 7)**.

El dominio de unión a DNA es el más conservado entre las distintas especies en la superfamilia de receptores nucleares e incluye dos motivos del tipo dedo de zinc, concretamente del tipo cys4. En este dominio se encuentran además tres agrupaciones de residuos básicos implicados en la localización nuclear del VDRnuc1,25. Por su parte, el dominio de unión al ligando es un dominio multifuncional, ya que está implicado no sólo en la unión al ligando y en la dimerización, sino también en la

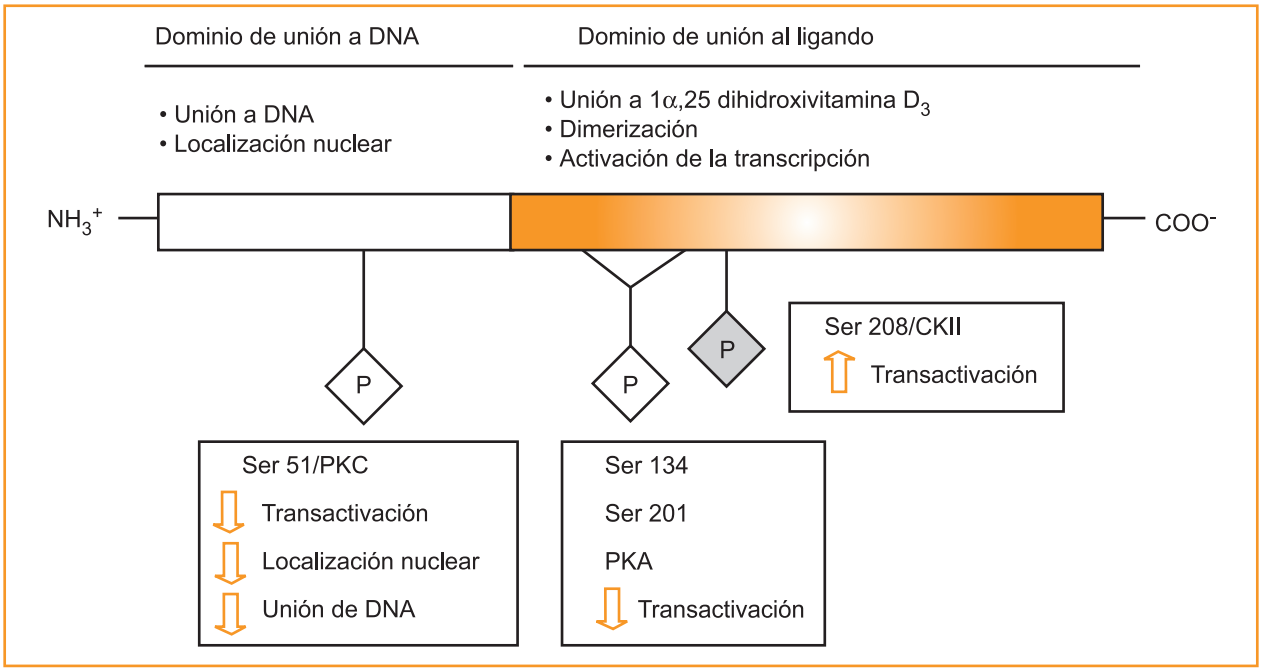


Figura 7. *Estructura proteica y regulación mediante fosforilación del VDR nuclear humano.*

activación de la transcripción (transactivación). Concretamente, este dominio contiene un motivo denominado función de transactivación dependiente del ligando o función de activación 2 (***A**ctivating **F**unction **2**, **AF2***), formado por un residuo de glutámico (E420) flanqueado por residuos hidrofóbicos, que es útil en la interacción con coactivadores que son proteínas que regulan la transcripción (*ver apartado 10.1.3.3*).

Las funciones del hVDRnuc1,25 (localización nuclear, unión al DNA y activación de la transcripción) se modulan intracelularmente por fosforilación/desfosforilación de serinas. En este sentido, el hVDRnuc1,25 es muy parecido a los receptores nucleares de glucocorticoides, de estrógenos, de la hormona tiroidea y del ácido retinoico, que también son regulados de esta manera. De las serinas presentes en este receptor, la serina-208 es la más fosforilada en respuesta al calcitriol, y se ha demostrado que la fosforilación de este residuo mantiene al hVDRnuc1,25 en un estado conformacional más activo para interaccionar con coactivadores o componentes del aparato basal de la transcripción. Por tanto, la fosforilación en ser-208 estimula la transactivación. Aparentemente, es la enzima proteína kinasa CKII la que cataliza la reacción de fosforilación de este residuo.

La ser-51 presente en el dominio de unión a DNA es el segundo residuo de serina más fosforilado del hVDRnuc1,25 e influye no sólo en la transactivación, sino también en la localización nuclear del factor de transcripción y en su unión al DNA. Se ha descrito que su fosforilación está catalizada por la proteína kinasa C-β **(PKC-β)**. Esta fosforilación no depende de la presencia del ligando, y disminuye la capacidad de unión al VDRE.

Aunque la fosforilación de estos dos residuos (ser-208 y ser-51) supone el 90% del total de las fosforilaciones del hVDRnuc1,25, se ha descrito que la fosforilación producida por proteína kinasa dependiente de AMP cíclico (proteína kinasa A, **PKA**) entre los aminoácidos 134 y 201 podría estar relacionada con la regulación de la transactivación estimulada por el calcitriol.

La existencia de diferentes sitios en el hVDRnuc1,25 regulados mediante fosforilación, y el hecho de que estén regulados independientemente y por distintas cascadas de kinasas iniciadas en la superficie celular, indica que las funciones nucleares del calcitriol están finamente reguladas no sólo por la unión de este ligando al hVDR, sino también por hormonas y factores de crecimiento y por el estado celular de crecimiento y diferenciación.

9.1.3.3. Factores implicados en la regulación transcripcional por calcitriol

La regulación de la transcripción por factores de transcripción se lleva a cabo mediante la unión de los mismos al promotor del gen regulando la tasa de transcripción de la RNA polimerasa II (*ver Capítulo 1.7*). Para que el factor de transcripción (que frecuentemente se une a regiones del promotor lejanas al punto de inicio de la transcripción) pueda alterar la tasa de transcripción de la RNA polimerasa, es necesaria la existencia de una serie de coactivadores que actúan de nexo entre el factor de transcripción y el aparato basal de la transcripción. Estos coactivadores pueden activar o inhibir la transcripción mediante varios mecanismos que incluyen:

1. La remodelación de la cromatina, que como ya se ha dicho hace que sea más accesible el gen para el aparato basal de la transcripción.

2. El reclutamiento de proteínas de la maquinaria basal de la transcripción.

3. El mantenimiento de la estabilidad del complejo basal de inicio de la tanscripción.

De hecho, recientemente se ha descrito la secuencia de acontecimientos que llevan al inicio de la transcripción: en primer lugar es necesaria la unión de coactivadores que remodelan la cromatina, para a continuación comenzar a reclutar componentes del aparato basal que incluyen factores de transcripción generales (TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIH) y la RNA polimerasa II. Parece ser que se necesitan ambos tipos de coactivadores (los que remodelan la cromatina y los que reclutan la polimerasa II) o factores con ambas actividades para que la tanscripción sea eficiente.

La unión al VDRnuc1,25 produce, además de la heterodimerización con el RXR, el reclutamiento de varias proteínas coactivadoras entre las que se han incluido hasta la fecha proteínas de la familia de coactivadores de receptores esteroideos (***S****teroid* ***R****eceptor* ***C****oactivators,* ***SRC***), el complejo de proteínas que interaccionan con el VDR (*VDR* ***I****nteracting* ***P****rotein Complex*) o ***DRIP***/***TRAP***, el complejo CBP/P300 y las proteínas coactivadoras P160, SMAD3 o NcoA-62.

El SRC se une al dominio AF-2 y a otros puntos de VDRnuc1,25, mientras que otros coactivadores como el NcoA-62 no necesitan el dominio AF-2 para unirse al VDRnuc1,25. Se ha descrito que el hecho de que distintos coactivadores se unan a distintas secuencias del VDRnuc1,25 puede hacer que se produzca un efecto sinérgico con el fin de incrementar la transcripción activada por el ligando (el calcitriol).

10. Acciones de la vitamina D (Figura 8)

10.1. Acciones clásicas de la vitamina D. Homeostasis mineral

La vitamina D_3 participa de manera activa en el mantenimiento de la concentración circulante de calcio actuando sobre la absorción intestinal de calcio, sobre la síntesis y degradación del hueso y sobre la excreción renal de calcio.

Como se ha comentado anteriormente, una disminución de la concentración sérica de calcio estimula la liberación de PTH, que a su vez estimula la síntesis de calcitriol (**Figura 2**). Además, el calcitriol, junto con la PTH, estimula la reabsorción renal de calcio y la movilización de calcio del hueso (resorción ósea). Los efectos intestinales de la PTH están mediados por el calcitriol, mientras que ambas moléculas tienen actividad directa sobre el riñón y el hueso.

El incremento de los niveles séricos de calcio produce la inhibición de la secreción de la PTH, disminuyendo como consecuencia la biosíntesis de calcitriol y la movilización de calcio. Además, cuando los niveles plasmáticos de calcio suben por encima de lo normal, las células C del tiroides secretan la hormona calcitonina que bloquea la movilización de calcio del hueso y posiblemente estimula la excreción de calcio y fósforo en el riñón, volviendo a la normalidad los niveles de calcio.

La PTH actúa en cuestión de minutos, mientras que la estimulación del calcitriol requiere muchas horas. Por tanto, la regulación a corto plazo del control del calcio circulante depende de la acción de la PTH en el riñón y el hueso, con ayuda del calcitriol existente, mientras que una hipocalcemia prolongada provocará un incremento del calcitriol estimulando la absorción de calcio intestinal.

A continuación, se discutira más en profundidad la acción del calcitriol sobre sus tres órganos diana tradicionales: el intestino, el hueso y el riñón.

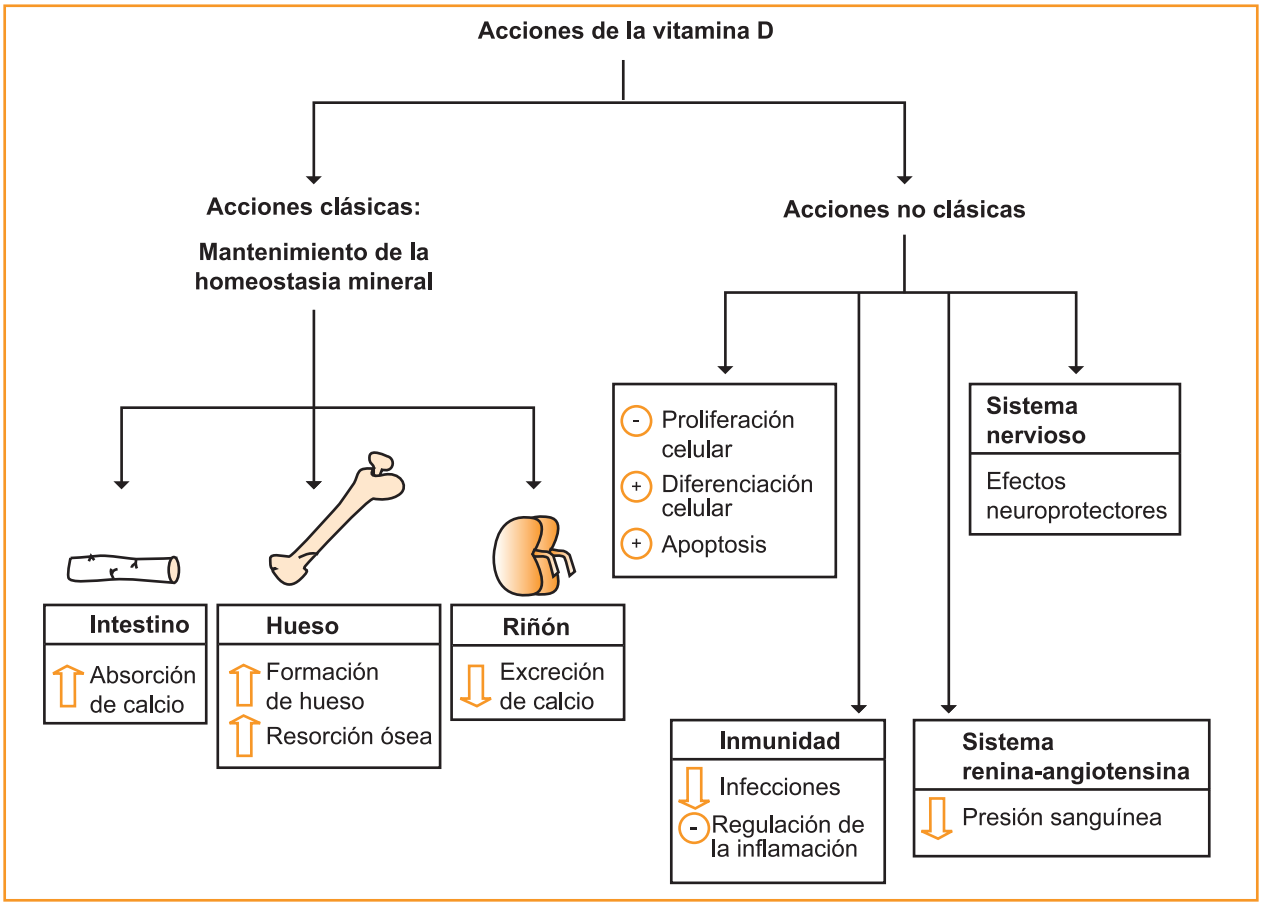


Figura 8. *Acciones de la vitamina D.*

10.1.1. Intestino

Es bien conocido que la administración de calcio intravenoso o el tratamiento a largo plazo con dosis orales de calcio producen la curación de niños que sufren raquitismo severo. Por otra parte, las anormalidades óseas producidas por deficiencias graves de vitamina D son prácticamente normalizadas mediante la infusión prolongada de calcio. Además, los ratones en los que el gen *VDR-nuc1,25* ha sido eliminado (ratones *knockout* para VDR) nacen normales fenotípicamente y sólo desarrollan hiperparatiroidismo, hipocalcemia, osteomalacia y raquitismo una vez son destetados. No obstante, la alimentación de estos ratones con una dieta con altos niveles de calcio, fósforo y lactosa normaliza los niveles de calcio y de hormona paratiroidea, a la vez que previene la aparición de raquitismo y osteomalacia. Estos hechos sugieren que el principal efecto del calcitriol sobre la homeostasis del calcio se produce sobre la absorción intestinal de calcio.

En general, la absorción neta de calcio es el resultado del balance entre la absorción intestinal de calcio vía transcelular (saturable) y vía paracelular (no saturable), y la secreción de calcio por diferentes órganos en el intestino (secreción gástrica, biliar, pancreática e intestinal). A su vez, el transporte neto intestinal de calcio está determinado por la disponibilidad de este ión en la dieta, por su solubilidad en el intestino y por la capacidad neta de absorberlo a través del intestino.

El transporte paracelular de calcio es un proceso pasivo no saturable que depende de la concentración luminal de calcio y de la integridad de las *tight junctions*. Por el contrario, el transporte transcelular de calcio es un proceso saturable mucho más regulado, que es funcionalmente importante en condiciones de baja ingesta o deficiencia de calcio. En este caso, es necesario captar el máximo

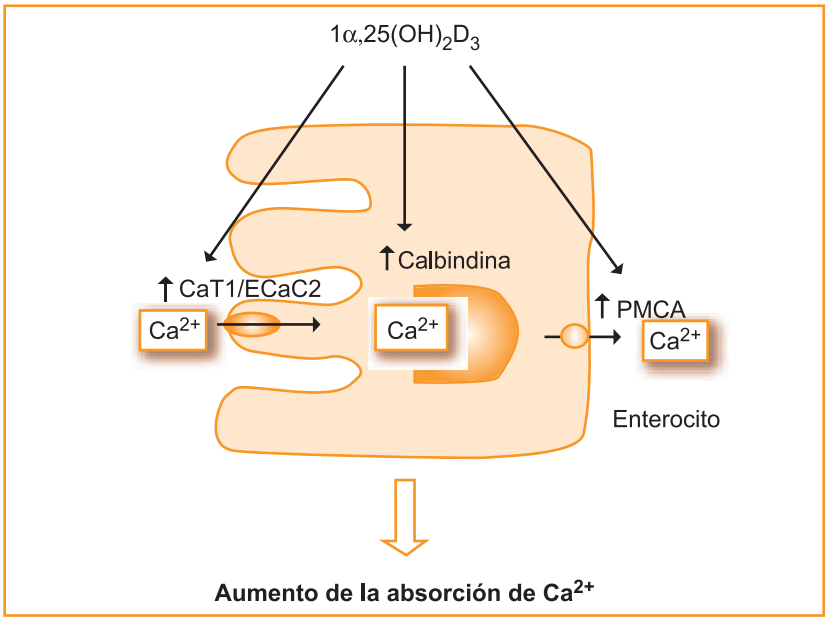


Figura 9. *Mecanismo de acción de la vitamina D a nivel intestinal.*

posible de calcio del lumen intestinal; la absorción paracelular no será suficiente y se necesitará la ayuda de la absorción transcelular. Por el contrario, cuando la ingesta de calcio sea alta (alta concentración luminal de calcio), la vía transcelular no será importante, ya que se absorberá suficiente calcio por la vía paracelular.

El transporte transcelular se da principalmente en el duodeno y en la porción proximal del yeyuno y consta de tres fases:

1. La entrada de calcio a través de la membrana del borde en cepillo mediante canales de calcio específicos.

2. El transporte intracelular.

3. La extrusión del calcio hacia el torrente sanguíneo en la cara basolateral.

El calcitriol es el principal factor que controla la absorción intestinal de calcio, actuando sobre las tres fases. Otros factores como la hormona paratiroidea (PTH), glucocorticoides, estrógenos, factores relacionados con el embarazo, hormona de crecimiento o factor de crecimiento similar a la insulina (***I**nsulin-like **G**rowth **F**actor*, ***IGF***) pueden también influir en el transporte de calcio. No obstante, actualmente no está claro hasta qué punto su efecto es directo o está mediado por la vitamina D. La **Figura 9** muestra la regulación del transporte transcelular de calcio en el intestino por la vitamina D.

En las células intestinales se dan dos respuestas distintas a la administración de calcitriol. Por una parte, se produce una respuesta rápida que incrementa la absorción de calcio. Esta respuesta se produce gracias al reclutamiento hasta la membrana apical del enterocito de canales de calcio presintetizados. Hasta la fecha se han descrito dos canales epiteliales de calcio denominados **ECaC1** (***E**pithelial **Ca**lcium **C**hannel*) y ECaC2 (en el intestino predomina éste, mientras que en el riñón predomina el EcaC1), además de un canal transportador de calcio denominado ***CaT1*** (***Ca**lcium **T**ransport channel),* que median la entrada de calcio en el enterocito y son sensibles a la acción del calcitriol.

Por otra parte, se produce una respuesta lenta consistente en la síntesis de más canales de calcio, de calbindina (encargada del transporte de calcio en el enterocito) y de transportadores de calcio que se encargan de la extrusión del calcio desde la membrana basolateral del enterocito. De hecho, se ha demostrado que los ratones a los que se elimina el gen del *VDRnuc1,25* presentan una expresión de los canales ECaC2 y ECaC1 muy disminuida (del orden del 90%) en comparación con ratones normales (*wild type*).

Entre otras funciones, la calbindina es una proteína que se une directamente al calcio y actúa como su transportador intracelular, de modo que hace llegar el calcio a la membrana basolateral desde donde mediante transporte activo sale fuera de la célula. Así, la calbindina se encarga de mantener los niveles de calcio intracelular bajos, contribuyendo a incrementar la captación de calcio por los canales del borde en cepillo del enterocito. Existen dos subclases de calbindina denominadas en función de su peso molecular: calbindina-D9k (9.000 Da) y calbindina-D28k(28.000 Da). La calbindina-D9k se expresa en el intestino de mamíferos y en el riñón de ratón, mientras que la calbindina-D28k se expresa en el intestino de aves y en el riñón y el páncreas de aves y mamíferos, así como en el cerebro de mamíferos. El calcitriol induce la producción de mRNA de calbindina mediante su unión al

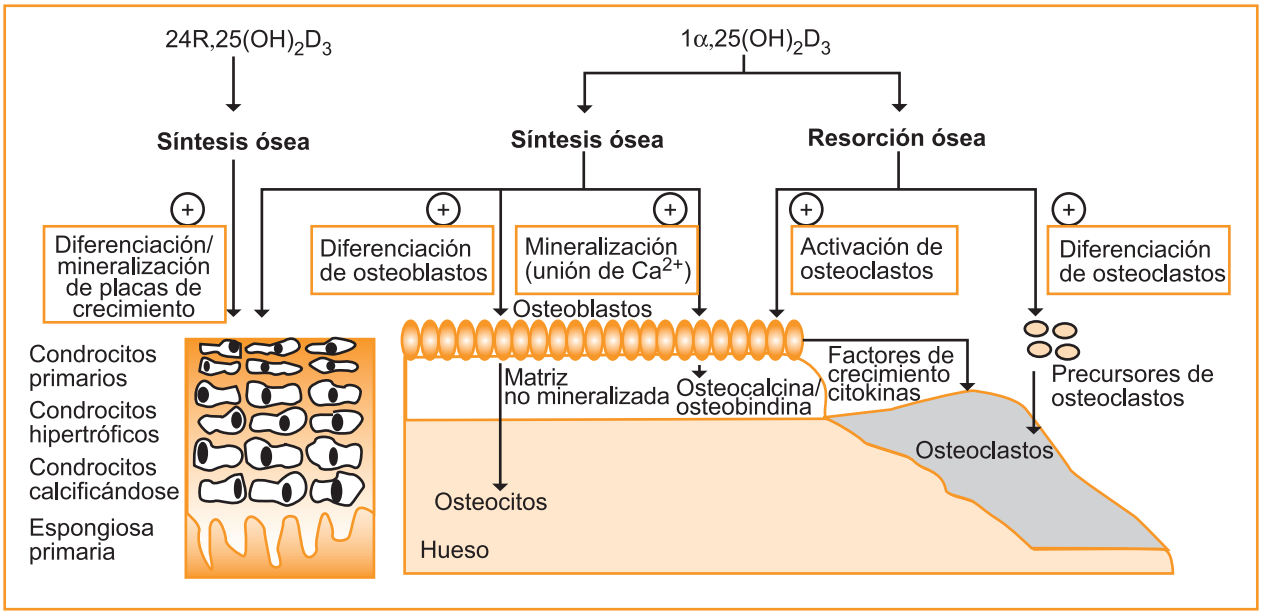


Figura 10. *Acciones de la vitamina D a nivel óseo.*

VDRnuc1,25. La relación entre el calcitriol y la producción de calbindina es tal que la medida de calbindina es una medida directa de la deficiencia o suficiencia de vitamina D.

La regulación de la absorción de calcio por la vitamina D se produce en función del calcio ingerido de la siguiente manera. Cuando la ingesta de calcio es alta, la concentración luminal de calcio lo es también, por lo que la necesidad de evitar una entrada excesiva de calcio, que podría, entre otras cosas, ser tóxica para el enterocito, se convierte en esencial. Se produce entonces una disminución del calcitriol circulante (hay que tener en cuenta que la cantidad calcitriol circulante varía de forma inversamente proporcional a la concentración plasmática de calcio), lo que llevará al cierre de los canales de calcio. Además, al disminuir los niveles plasmáticos de calcitriol se produce menos calbindina y como resultado disminuye el transporte de calcio transcelular.

La extrusión de calcio a través de la membrana basolateral del epitelio intestinal es un proceso activo (en contra del gradiente electroquímico) mediado por dos transportadores de calcio: la bomba de calcio de membrana plasmática (***P**lasma **M**embrane **CA**lcium pump*, ***PMCA***), que es una ATPasa, y un intercambiador Na^+/Ca^{2+} denominado NCX. Este último es responsable del 20% del calcio expulsado a través de la membrana basolateral, y se ha demostrado que el calcitriol no afecta a su actividad. Por el contrario, el calcitriol aumenta los niveles de RNA mensajero y la síntesis proteica de la PMCA. Así, se ha demostrado que los pollos adaptados a una dieta baja en calcio y fósforo presentan un incremento de la síntesis de proteína y de RNA mensajero de la PMCA en comparación con el grupo control, alimentado normalmente.

10.1.2. Hueso (Figura 10)

En general, la incorporación de calcio al hueso es un fenómeno que depende de la concentración de calcio circulante, la cual, a su vez, depende fundamentalmente de la absorción intestinal. Consecuentemente, se ha descrito que el principal efecto del calcitriol sobre el metabolismo óseo del calcio se produce a nivel de su absorción intestinal, suministrando suficiente calcio disponible para ser incorporado al hueso. No obstante, el calcitriol tiene efectos directos sobre el hueso que afectan tanto a la formación como a la resorción ósea.

El sistema esquelético está constituido por elementos celulares y por la matriz extracelular. Dentro de los elementos celulares es interesante destacar la presencia de células osteoprogenitoras indiferenciadas, con una gran capacidad proliferativa que van perdiendo conforme maduran y se diferencian, dando lugar a varias líneas celulares (*ver*

Capítulo 1.27). De estas líneas interesa resaltar la línea condroprogenitora, cuya célula final es el condroblasto, y la línea osteoprogenitora que origina el osteoblasto maduro, del que, a su vez, deriva el osteocito.

Los osteoblastos son células cuya función principal es la secreción de una matriz extracelular en la que se depositarán los iones minerales, regulando así el proceso de calcificación. Por su parte, los osteocitos son las células más abundantes en el hueso maduro y crean una superficie de intercambio entre el hueso y el líquido extracelular a través del cual puede moverse el calcio y el fosfato desde el gran reservorio óseo para mantener la homeostasis plasmática. El calcitriol estimula directamente, mediante su unión al receptor VDR-nuc1,25, la diferenciación de osteoblastos y la producción de proteínas de unión a calcio óseo, como la osteocalcina y la osteopontina. De hecho, existen nuevos análogos del calcitriol que tienen acción selectiva anabólica sobre los osteoblastos y, como resultado, producen un incremento en la formación de hueso.

Por otra parte, tanto el calcitriol como el 24-R-calcitriol podrían estimular la formación de hueso promoviendo la diferenciación de condrocitos. En el proceso de formación del hueso en el feto se produce inicialmente un esqueleto formado por cartílago. A continuación, este cartílago se calcifica, produciéndose la invasión vascular del cartílago calcificado y la formación de hueso utilizando como molde el cartílago. Como última etapa, el cartílago es reemplazado por la médula ósea.

Con el fin de permitir el crecimiento del hueso en la etapa postnatal, es necesario mantener cartílago. Así, se conservan unas zonas denominadas placas de crecimiento en las que se mantienen condrocitos capaces de producir cartílago, de proliferar, diferenciarse y finalmente sufrir el proceso de calcificación para formar el hueso. Este proceso produce como resultado el crecimiento longitudinal del hueso. No obstante, los condrocitos permanecen en una zona denominada zona de descanso, donde sólo proliferan y se diferencian cuando reciben las señales adecuadas.

En el proceso de vascularización de las placas de crecimiento y la formación posterior de hueso intervienen el calcitriol y el 24-R-calcitriol. Ambos son necesarios para el crecimiento óptimo y la diferenciación de las placas de crecimiento. De hecho, cuando aparece raquitismo (causado por deficiencia de vitamina D), las placas de crecimiento no se mineralizan y las zonas hipertróficas crecen. Las zonas hipertróficas son aquellas que se van formando al crecer el hueso, en las que hay condrocitos maduros no proliferativos, productores de matriz, pero en las que aún no se ha producido la mineralización de la matriz y por tanto no constituyen hueso propiamente dicho. Las zonas hipertróficas crecen porque las placas de crecimiento no se calcifican y el cartílago no se elimina por los condroclastos. Por tanto, no tiene lugar la invasión vascular ni la formación subsiguiente de hueso y se acaba produciendo el arqueamiento característico de las piernas asociado al raquitismo en niños.

Además de los tipos celulares mencionados anteriormente, en el hueso se encuentran unas células denominadas osteoclastos, que derivan de las células progenitoras de los granulocitos y los macrófagos. Estas células se transforman en precursores de osteoclastos que son distribuidos al hueso por vía sanguínea. En el hueso, los osteoclastos se encuentran en cavidades denominadas "lagunas de Howship", donde ejercen su acción erosiva que forma parte del proceso de remodelado óseo: destrucción de la matriz ósea en varios puntos y sustitución por hueso nuevamente formado. Del equilibrio de estos procesos que se producen durante toda la vida depende la masa ósea del individuo.

El osteoclasto no permanece activo de forma continua, sino que se activa cuando existe una demanda de calcio (en este caso, el esqueleto actúa como reserva de calcio) y retorna a la inactividad una vez satisfecha. Dado que el osteoclasto no presenta receptores para la PTH, es necesario que esta hormona actúe indirectamente a través del calcitriol. Así, cuando se produce una disminución de los niveles plasmáticos de calcio, se incrementan los niveles de PTH y como consecuencia se incrementa la síntesis de calcitriol. La actuación de este metabolito de la vitamina D sobre los osteoblastos hace que se produzcan citokinas y factores de crecimiento que estimulan la actividad y la formación de los osteoclastos. Además, el calcitriol actúa directamente incrementando la formación de nuevos osteoclastos y su diferenciación. En este efecto del calcitriol está implicado el *VDRnuc1,25*.

En definitiva, el calcitriol incrementa la actividad y el número de osteoclastos, produciendo la resorción del hueso y la liberación del calcio óseo.

10.1.3. Riñón

En el riñón el calcio es inicialmente filtrado de forma masiva (hasta 10 g/día) en el túbulo proximal e igualmente absorbido a continuación en el túbulo contorneado proximal. No obstante, a nivel renal el sitio clave para la regulación hormonal del calcio es el túbulo distal. Es, concretamente, en esta parte donde se produce la reabsorción selectiva de calcio, controlándose así las pérdidas urinarias netas. Este proceso está regulado a nivel molecular por mecanismos similares a los implicados en el transporte activo de calcio en el intestino, aunque en el intestino la absorción de calcio está más regulada en las regiones proximales (duodeno y yeyuno) que en las distales, donde la absorción de calcio es menos saturable. El calcitriol afecta al transporte de calcio a través de la membrana celular, ejeciendo su efecto sobre la entrada a través de la membrana apical (incrementa los niveles de RNA mensajero del transportador EcaC1), sobre la difusión a través del citosol mediante la calbindina (incrementa los niveles de esta proteína por el mismo mecanismo descrito en intestino), y sobre la extrusión activa de calcio a través de la membrana basolateral.

10.2. Acciones no clásicas de la vitamina D

Además de las acciones clásicas de la vitamina D sobre la absorción y el uso del calcio y el fosfato, se ha descrito que esta vitamina es capaz de afectar a la proliferación y a la diferenciación celular y que tiene efectos sobre la respuesta inmune y del sistema nervioso **(Figura 8)**. Estas acciones no clásicas de la vitamina D han hecho que se asocien parámetros como la ingesta de vitamina D, las concentraciones plasmáticas de 25(OH) vitamina D_3 o variaciones alélicas en el gen del VDR con la incidencia de múltiples enfermedades como ciertos tipos de cáncer, infecciones, enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, la diabetes tipo I, la hipertensión o enfermedades cardiovasculares. En consecuencia, la obtención de análogos sintéticos de las moléculas activas de la vitamina D se ha convertido en los últimos años en un campo de investigación muy activo. A continuación, se discutirán las acciones no clásicas de la vitamina D y su papel en el tratamiento de ciertas enfermedades.

10.2.1. Efectos de la vitamina D sobre la proliferación celular, la diferenciación celular y la apoptosis

La vitamina D es antiproliferativa, promueve la maduración celular, e induce tanto la diferenciación como la apoptosis en diferentes líneas celulares, incluyendo líneas cancerosas. El papel de la vitamina D en estas células puede ejercerse mediante su unión al VDRnuc1,25. De hecho, se ha demostrado la presencia de VDRnuc1,25 en células de la glándula mamaria, el colon, la próstata y el sistema nervioso central. Por otra parte, se ha descrito que estas células también expresan 25(OH) vitamina D_3 1α-hidroxilasa, lo que podría indicar que pueden producir localmente calcitriol con el fin de regular su diferenciación, proliferación y muerte celular programada. Por tanto, en los últimos años se ha hecho patente que la vitamina D juega un papel importante en el crecimiento y en la diferenciación celular, y que podría proteger frente al inicio y la progresión del cáncer.

10.2.1.1. Cáncer

Hay evidencias de que la exposición a la luz solar se asocia con una baja tasa de mortalidad por cáncer de mama, colon y próstata, mientras que la distribución geográfica del raquitismo coincide con la de muertes por cáncer. Además, y más directamente, en varios estudios se han correlacionado bajas ingestas de vitamina D y niveles séricos bajos de 25(OH) vitamina D_3 con un incremento en el riesgo de padecer cáncer de mama, de próstata, de colon y colorrectal. La agresividad del cáncer puede también estar relacionada con los niveles séricos de vitamina D; de hecho, las concentraciones séricas bajas de vitamina D se han relacionado con una mayor agresividad del cáncer de próstata y de mama.

A nivel molecular, varios estudios genéticos han identificado alelos específicos del VDR que se correlacionan con un incremento del riesgo de cáncer de mama esporádico y con la agresividad de las metástasis. Estudios similares han relacionado alelos específicos con el cáncer de próstata y colon.

Los efectos específicos del calcitriol sobre las células de cáncer de mama, leucemia mieloide y tumores del sistema nervioso central han sido estudiados principalmente en modelos animales y celulares. Entre ellos, se incluyen la inhibición del crecimiento

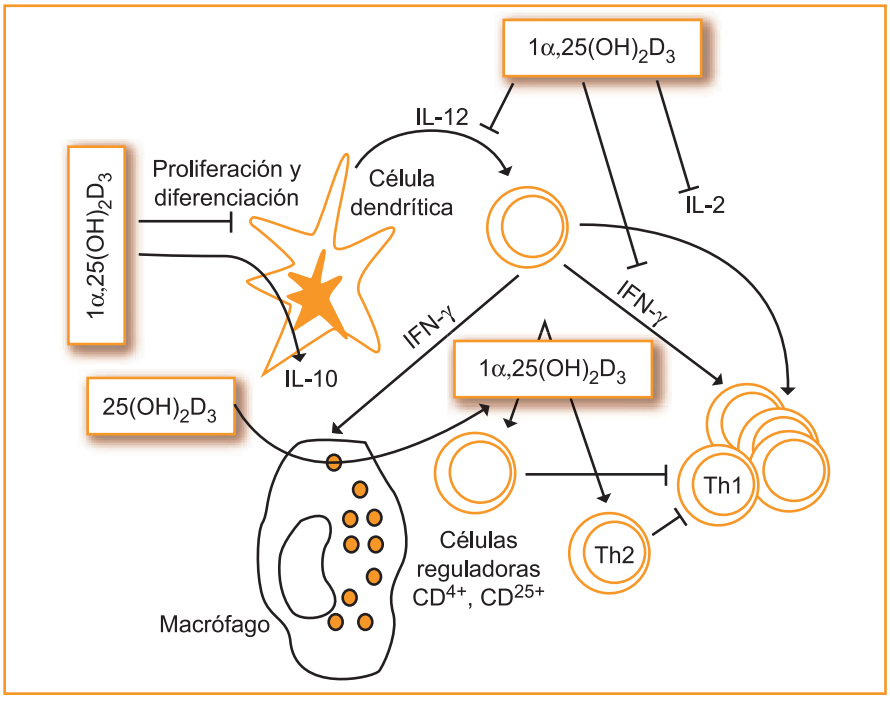


Figura 11. *Acciones de la vitamina D sobre la inmunidad.*

mediante la modulación de la maquinaria del ciclo celular, y la consiguiente detención de las células en la fase Go/G1, y la disrupción de la función mitocondrial con el fin de inducir muerte celular por apoptosis. Además, se ha demostrado que el calcitriol puede suprimir la tumorogénesis mamaria.

En cuanto a los estudios clínicos, se ha descrito la efectividad del calcitriol en el tratamiento de glioblastomas en un estudio clínico de fase II. Otro estudio ha demostrado que la proliferación de las células del colon de pacientes con riesgo de neoplasia cólica puede ser reducida con la administración de grandes dosis de 25(OH) vitamina D_3.

10.2.2. Efectos de la vitamina D sobre el sistema inmune

10.2.2.1. Infecciones

Los macrófagos representan la primera línea de defensa inespecífica del sistema inmune. El calcitriol es capaz de inducir la diferenciación de monocitos a macrófagos y de incrementar la tasa de fagocitosis y actividad de estos últimos mediante la inducción de la producción de enzimas lisosómicas. Este efecto está mediado por un incremento en la expresión de receptores de superficie-Fc específicos y por un incremento de la respiración celular.

Además, es interesante reseñar que los macrófagos poseen actividad 1α-hidroxilasa y pueden por tanto sintetizar calcitriol a partir de 25(OH) vitamina D_3. La actividad de esta enzima está incrementada en macrófagos activados, lo que produce un incremento en la concentración de calcitriol en estas células **(Figura 11)**.

Existen datos epidemiológicos que señalan una correlación entre la deficiencia de vitamina D y un mayor riesgo de infección. Estos estudios indican que la incidencia y la prevalencia de enfermedades respiratorias en niños con raquitismo nutricional son mayores.

10.2.2.2. Inflamación y enfermedades autoinmunes

En los últimos años se ha demostrado que el calcitriol tiene efectos moduladores sobre el sistema inmune específico, los cuales están siendo estudiados activamente. De hecho, tanto el calcitriol como varios análogos estructurales del mismo han demostrado tener efectos beneficiosos en el tratamiento de enfermedades autoinmunes producidas en modelos animales, como la diabetes, la artritis o la nefritis, y en modelos de transplantes.

Las citokinas derivadas de los macrófagos producen la diferenciación de los linfocitos T-colaboradores en reposo (Th) hasta células Th0. Posteriormente, y gracias a la influencia de factores adicionales como citokinas exógenas y moléculas coestimuladores producidas por células presentadoras de antígenos (macrófagos y células dendríticas), las células Th0 se diferencian de las células Th1 o Th2. Ambos tipos de células secretan un perfil específico de citokinas que están implicadas en la proliferación y en la diferenciación de células T y B. El calcitriol puede regular la respuesta inmune tanto en

órganos linfoides secundarios como en tejidos diana mediante varios mecanismos **(Figura 11)**:

a) El calcitriol inhibe la diferenciación y la maduración de células dendríticas, que son células presentadoras de antígenos, cruciales en la inducción de la respuesta inmune mediada por células T.

b) El calcitriol inhibe el desarrollo de células Th1 en tanto que induce el desarrollo de células $CD4^+CD25^+$ y de células Th2. Estos dos últimos tipos celulares son capaces de inhibir a las células Th1. El calcitriol inhibe la producción de IL-12 y estimula la producción de IL-10, a la vez que disminuye la expresión de las moléculas coestimuladoras (CD40, CD80, CD86) en células dendríticas (presentadoras de antígenos). Como consecuencia se inhibe el desarrollo de células Th1.

c) El calcitriol actúa inhibiendo la síntesis del mRNA de citokinas producidas por macrófagos y células presentadoras de antígenos, como son la interleukina (IL)-1, la IL-6, la IL-12 y el factor de necrosis tumoral (TNF-α). Además, el calcitriol estimula la secreción de prostaglandina E2 (PGE2) de carácter antiinflamatorio, mientras que inhibe la producción del factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), responsable de la producción de nuevos monocitos.

d) El calcitriol puede disminuir la actividad presentadora de antígenos de los macrófagos a los linfocitos mediante la disminución de la expresión en la superficie celular de moléculas del complejo principal de histocompatibilidad de clase II (MHC-II).

e) El calcitriol actúa directamente sobre las células T, inhibiendo la secreción de IL-2 (esencial para la expansión clonal de los linfocitos) e interferón-γ (IFN-γ) por células Th1.

10.2.2.3. Artritis reumatoide

La artritis reumatoide se caracteriza por la infiltración de macrófagos, linfocitos T y células plasmáticas en el sinovio, produciendo un estado de inflamación crónica, caracterizado por la producción de citokinas como la IL-6 y el TNF-α. Entre otros signos, los pacientes que sufren artritis reumatoide poseen altos niveles de proteína C reactiva, un marcador bioquímico de inflamación.

Varios estudios han indicado que existe una correlación entre el padecimiento de artritis reumatoide y la gravedad de la enfermedad y los niveles bajos de vitamina D. Además, estudios clínicos han indicado que la administración de 2 µg/día de vitamina D a pacientes afectados de artritis reumatoide es capaz de aliviar el dolor y de producir una disminución significativa de los niveles séricos de proteína C reactiva.

10.2.2.4. Enfermedad inflamatoria intestinal

La enfermedad inflamatoria intestinal es otro tipo de enfermedad inflamatoria que ha sido relacionada con niveles bajos de vitamina D. De hecho se ha observado que los pacientes afectados por esta enfermedad poseen niveles más bajos de vitamina D y que la cantidad de vitamina D disponible puede ser un factor importante en el desarrollo de la enfermedad.

En estudios recientes, se ha descrito que el receptor de la vitamina D podría tener un papel crucial en la regulación de la inflamación en el tracto gastrointestinal y concretamente en la enfermedad inflamatoria intestinal. En estos estudios se ha demostrado que la eliminación del gen del *VDRnuc1,25* en diversos modelos de enfermedad intestinal en ratones produce la aceleración del desarrollo de la enfermedad inflamatoria intestinal y además un incremento en su gravedad y en la mortalidad.

10.2.2.5. Esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple es una enfermedad en la que se produce una desmielinización del sistema nervioso central que parece estar causada por procesos autoinmunes mediados por los linfocitos T. La enfermedad se manifiesta generalmente entre los 20 y los 40 años.

Varios hechos indican que un estado inadecuado de vitamina D es un factor patogénico importante en el desarrollo de esta enfermedad. Así, la prevalencia de esta enfermedad es prácticamente nula en zonas cercanas al ecuador y manifiesta un gradiente de prevalencia norte-sur. Por otra parte, varios estudios indican que en gran parte de los pacientes afectados los niveles de vitamina D son insuficientes.

Un estudio con enfermos de esclerosis múltiple ha demostrado que la suplementación con calcio, magnesio y vitamina D (125 µg/día) durante 1-2 años fue capaz de reducir la incidencia de recaídas con respecto a las cifras esperadas.

Varios estudios han demostrado que los efectos beneficiosos de la vitamina D en la esclerosis múltiple pueden ser debidos a la inhibición de las células Th1 (inflamatorias), a la inhibición de la producción de citokinas inflamatorias por macrófagos activados, a un incremento de la producción de citokinas antiinflamatorias y a la acción antiproliferativa en linfocitos mediante la expresión del *VDRnuc1,25*. En línea con estas observaciones se ha descrito recientemente que la suplementación con vitamina D es capaz de reducir los niveles de mRNA de IL-2 en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con esclerosis múltiple. Otro mecanismo posible es la inhibición de la expresión de iNOS en el sistema nervioso central.

10.2.3. Efectos de la vitamina D sobre el sistema renina-angiotensina

El sistema renina-angiotensina juega un papel esencial en la regulación de la presión sanguínea. La renina se produce y secreta predominantemente en el aparato yuxtaglomerular. Su principal función es la de cortar el angiotensinógeno para obtener un decapéptido denominado angiotensina I, el cual se transforma posteriormente en un octapéptido denominado angiotensina II por la acción de la enzima convertidora de angiotensina. La angiotensina II es, mediante su acción sobre diversos órganos, el efector principal del sistema renina angiotensina, mientras que la regulación principal se produce a nivel de la síntesis y secreción y por tanto de la actividad de la renina.

Varios estudios clínicos y epidemiológicos han sugerido una relación inversa entre la vitamina D, la presión sanguínea y la actividad de la renina plasmática. Efectivamente, se ha demostrado tanto en pacientes normotensos como hipertensos que los niveles séricos de vitamina D están inversamente asociados con la presión sanguínea y la actividad de la renina plasmática. Además, en estudios clínicos se ha descrito que la vitamina D reduce la presión sanguínea en ancianos hipertensos. De hecho, se ha demostrado que el tratamiento calcitriol reduce la actividad de la renina plasmática, los niveles de angiotensina II, la presión sanguínea y la hipertrofia del miocardio.

Aunque no se conoce el mecanismo de acción del calcitriol sobre el sistema renina-angiotensina, sí hay datos que indican que su efecto está mediado por el VDRnuc1,25 y recientemente se ha descrito que el calcitriol es un potente inhibidor de la expresión génica de la renina.

10.2.4. Efectos de la vitamina D sobre el sistema nervioso

El calcitriol puede sintetizarse y degradarse en el cerebro, ya que se ha demostrado la existencia de vitamina D_3 25-hidroxilasa, 25-dihidroxivitamina D_3 1α-hidroxilasa y vitamina D_3 24-hidroxilasa en el cerebro. Además, tanto en el cerebro como en la médula espinal existe VDRmem1,25 por lo que tanto las células de la glia, como las neuronas y los astrocitos podrían ser una diana importante para el calcitriol.

La vitamina D podría tener efectos neuroprotectores en el sistema nervioso. Los mecanismos descritos que avalan este efecto son los siguientes:

a) Se ha demostrado que el calcitriol induce la muerte y/o rediferenciación de células del glioma. Por tanto, su síntesis por células activadas de la microglia y por neuronas, las cuales expresan 25-dihidroxivitamina D_3 1α-hidroxilasa podría constituir una respuesta antitumoral del sistema nervioso central. Esta respuesta podría estar regulada por astrocitos mediante la expresión de vitamina D_3 24-hidroxilasa.

b) Se ha demostrado que en astrocitos el calcitriol induce la síntesis de varias neutrofinas [γ-glutamil transferasa, neutrofina 3 **(NF3)**, factor neutrófico derivado de la línea celular glial **(GDNF)** y factor de crecimiento de nervios **(NGF)**], que podrían ejercer efectos neuroprotectores.

c) El calcitriol inhibe la síntesis de iNOS. Los niveles elevados de óxido nítrico son tóxicos tanto para las neuronas como para los oligodendrocitos. Además, el óxido nítrico puede reaccionar con otras moléculas, produciendo radicales libres que resultan nocivos. Por otra parte, la γ-glutamil transferasa, cuya síntesis por los astrocitos es inducida por el calcitriol, podría prevenir la formación de radicales reactivos del nitrógenos y del oxígeno.

El VDRmem1,25 presente en el sistema nervioso, y por tanto la vitamina D, podría tener un papel importante en la regulación de la neuro-ontogénesis. Los hechos que avalan esta hipótesis son los siguientes:

a) La expresión de *VDRnuc1,25* está regulada por el desarrollo en los tejidos del sistema nervioso.

b) El VDR se ha localizado en el neuroepitelio durante la neurogénesis y, más tarde, en la zona subventricular del cerebro en áreas que son capaces de mantener la generación de células madre durante la vida.

c) El gen del VDR se expresa específicamente en las neuronas ganglionares de la raíz dorsal de roedores, lo cual indicaría que la vitamina D ejerce una función en el desarrollo del sistema nervioso periférico.

Se ha demostrado que la vitamina D puede estar relacionada con diversas enfermedades que afectan al sistema nervioso, como la esclerosis múltiple, la isquemia cerebral e incluso el Alzheimer.

11. Niveles normales y deficiencia de vitamina D

Como ya se ha comentado anteriormente, y aunque carece de actividad, la concentración sérica de 25(OH) vitamina D_3 es el parámetro utilizado para el estudio de los niveles de vitamina D, siendo la concentración normal de este metabolito en suero de 25-50 ng/ml.

La revisión de estudios publicados entre 1990 y 1999 indica que en España entre un 47,1% y un 94,2% de los individuos tienen ingestas de vitamina D inferiores a las recomendadas. No obstante, el riesgo de carencia se resuelve por la posibilidad de sintetizar la vitamina en el organismo, aunque el aporte es claramente deficitario en personas con escasa exposición a la luz solar y en embarazadas. La ingesta media de vitamina D en embarazadas en España es de 3,1 ± 1,2 µg/día, muy inferior a la ingesta de referencia. De hecho, más del 90% de las embarazadas estudiadas presentan aportes de vitamina D inferiores a los recomendados.

Concentraciones séricas de 3 ng/ml de 25(OH) vitamina D_3 se asocian con signos clínicos de deficiencia. No obstante, se interpreta que existe déficit de vitamina D cuando la concentración de 25(OH) vitamina D_3 en suero es menor o igual a 12 ng/ml. Cuando esta deficiencia es continua durante meses se produce raquitismo u osteomalacia. Ambos términos designan el mismo trastorno, aunque el término raquitismo es utilizado cuando se produce en niños, mientras que el de osteomalacia se utiliza para adultos.

Los cambios bioquímicos característicos que se producen cuando hay deficiencia de vitamina D incluyen niveles plasmáticos bajos de calcio y fósforo inorgánico, mientras que la fosfatasa alcalina se encuentra incrementada en el plasma. Inicialmente la deficiencia produce una disminución de la absorción de calcio y un hiperparatiroidismo secundario, secretándose PTH como respuesta a los bajos niveles de calcio. Con el calcitriol remanente se moviliza el calcio óseo, restaurándose los niveles de calcio séricos a valores normales. No obstante, la PTH también causa fosfaturia e hipofosfatemia, lo que da lugar a fallos en la mineralización ósea y eventualmente a la aparición de los sígnos clínicos óseos característicos del raquitismo y la osteomalacia.

En ambos casos, el diagnóstico se realiza mediante la determinación de las concentraciones plasmáticas de calcio, fósforo, fosfatasa alcalina, PTH y 25(OH) vitamina D_3, además del diagnóstico radiográfico de las deformaciones óseas.

Los signos clínicos óseos característicos del raquitismo incluyen tumefacciones a nivel de las epífisis de los huesos largos e incurvaciones producidas por ablandamiento de los huesos. El crecimiento óseo se produce a través de la creación de nuevo cartílago y de zonas hipertróficas en las placas de crecimiento de los extremos de los huesos. Cuando el fosfato cálcico se deposita en el cartílago se crea una estructura dura. En el caso de que exista deficiencia de vitamina D_3, no hay calcio disponible para la mineralización del hueso y como resultado se produce hueso blando. Otros síntomas típicos del raquitismo a nivel óseo incluyen la aparición de protuberancias óseas en las costillas y las rodillas, denominados rosario costral, la aparición de craneomalacia o el aplastamiento anteroposterior del tórax. Éstos pueden aparecer acompañados de hipotonía muscular y retraso motor e incluso de convulsiones que se pueden dar ocasionalmente en niños con raquitismo por los bajos niveles de calcio en sangre.

El raquitismo se cura rápidamente con la administración durante 1 mes de 4.000 UI de vitamina D por vía oral. Durante este periodo de tiempo, se deben monitorizar los niveles de 25(OH) vita-

mina D_3, con el fin de asegurar que los niveles se han normalizado. Además de la administración de vitamina D, se aconseja que estos niños reciban luz solar o radiación de una lámpara de luz ultravioleta durante al menos 20 minutos al día.

En el adulto, la deficiencia en vitamina D provoca defectos en la mineralización del hueso que se manifiestan con la aparición de dolores en la zona dorsolumbar, cintura pélvica y huesos. En el control radiológico, se aprecia un aspecto borroso y algodonoso de la sustancia ósea con una transparencia anormalmente aumentada. La osteomalacia se trata con la ingestión diaria de 2.500 UI de vitamina D durante al menos 3 meses. Se aconseja también la exposición diaria al sol o en su defecto el uso de lámparas de luz ultravioleta. Los niveles plasmáticos de 25(OH) vitamina D_3 deben ser evaluados al final de este periodo para asegurar la eficacia de la terapia.

Dado que la vitamina D es tóxica en dosis superiores o iguales a las 50.000 UI al día en adultos y 1.000 UI al día en niños, en ambos tratamientos se debe tener cuidado por si aparecen síntomas de toxicidad producidos por un exceso de vitamina D.

La prognosis de la osteomalacia y el raquitismo es excelente. El tratamiento con vitamina D produce la normalización de la mineralización ósea y la corrección de los niveles plasmáticos de calcio. Además, las anormalidades óseas en niños generalmente desaparecen en un periodo de 3-9 meses, aunque en casos graves pueden persistir de por vida.

Como se ha comentado anteriormente, los grupos de riesgo en el padecimiento de raquitismo u osteomalacia son las personas oscuras de piel, aquellas que viven en países en los que los inviernos son largos, las mujeres de países islámicos, los enfermos que tienen impedida su movilidad, los ancianos y los niños. En definitiva, aquellos grupos de población en los que la exposición al sol no es suficiente.

Además, la deficiencia de vitamina D puede aparecer en pacientes con alteraciones del funcionamiento renal y hepático o de la absorción intestinal que pueden interferir con los mecanismos de absorción, transporte o metabolismo de la vitamina D; por ejemplo, síndromes de malabsorción y esteatorrea producidos por enfermedades como la enfermedad celiaca, la enfermedad inflamatoria intestinal, una pancreatitis crónica o una insuficiencia hepática. Además, determinadas situaciones quirúrgicas como resecciones gástricas o *bypass* yeyuno-ileal pueden producir esta deficiencia.

Los pacientes que sufren fallo renal crónico presentan frecuentemente baja absorción de calcio, hipocalciemia, hiperparatiroidismo secundario y ostrodistrofia. Estos pacientes sufren frecuentemente osteítis fibrosa y/u osteomalacia. Estos signos se producen como consecuencia de una disminución en la excreción de fósforo que produce la consiguiente inhibición de los niveles de PTH y la disminución de la actividad de la 25(OH) vitamina D_3 1α-hidroxilasa renal y por tanto de la síntesis de calcitriol. A estos pacientes se les suele administrar 1α-hidroxivitamina D_3 o 1α-hidroxivitamina D_2. Ambas formas de vitamina D pueden ser metabolizadas por la 25-hidroxilasa renal para obtener el calcitriol.

Por otro lado, el uso prolongado de fármacos anticomiciales, como se ha explicado anteriormente, altera el metabolismo del calcio estimulando la acción de hidroxilasas dependientes de citocromo P-450, lo que acelera la degradación del calcitriol, acelerando procesos de raquitismo u osteomalacia.

12. Enfermedades relacionadas con alteraciones en el metabolismo de la vitamina D o en la respuesta a vitamina D

12.1. Raquitismo resistente a vitamina D o hipofosfatemia familiar

La hipofosfatemia familiar es una enfermedad hereditaria ligada al cromosoma X cuya disfunción principal consiste en la pérdida de fosfato que se produce a nivel del túbulo renal, lo que conlleva una disminución de los niveles séricos de fosfato y el incremento de fosfatasa alcalina plasmática. Además, la absorción intestinal de calcio y fosfato se encuentra disminuida y se observan concentraciones elevadas de PTH en los sujetos afectados. Se ha descrito asimismo que el metabolismo de la vitamina D se encuentra alterado, aunque ésta no es la causa de la hipofosfatemia.

Las causas moleculares de esta enfermedad están siendo objeto de estudio. De hecho, se ha identificado un gen denominado ***PHEX*** (***P****hosphate regulating gene with* ***H****omologies to* ***E****ndopeptidases, on the* ***X*** *chromosome:* gen regulador de fosfato con homología con endopeptidasas, en el cromosoma X), que podría ser el responsable de la enfermedad, ya que se han detectado múltiples mutaciones en este gen en pacientes con hipofosfatemia familiar. El gen *PHEX* codifica una proteína de 749 aminoácidos que posee homología con metalopeptidasas de membrana con afinidad por el zinc. Estas endopeptidasas están en general implicadas en la degradación o activación de una gran variedad de hormonas peptídicas. Se cree que la proteína codificada por el gen *PHEX* podría estar implicada en la activación de una serie de hormonas que se han denominado fosfatoninas, las cuales estarían relacionadas con la absorción de fosfato, hipótesis esta que ha sido formulada recientemente por algunos investigadores y está adquiriendo cada vez más relevancia.

La hipofosfatemia familiar normalmente se manifiesta en la infancia y en la pubertad durante la fase rápida de crecimiento, y su signo más evidente es un retraso del mismo. Aunque la administración individual de vitamina D o de fósforo inorgánico no restaura el crecimiento, la administración conjunta de ambos ha dado buenos resultados, posiblemente porque la administración de fosfato contrarresta su pérdida renal, mientras que la vitamina D en forma de calcitriol o de vitamina D_2 incrementa la absorción de calcio y previene el hiperparatiroidismo secundario a la enfermedad. También se ha descrito que la suplementación con 24-R-calcitriol es capaz de disminuir los niveles de hormona paratiroidea y de mejorar los síntomas de raquitismo y osteomalacia en los enfermos afectados. Por otra parte, en algunos estudios el tratamiento con hormona de crecimiento ha demostrado ser efectivo, mejorando el crecimiento lineal y produciendo una disminución transitoria en la excreción de fosfato urinario.

12.2. Hipoparatiroidismo

El hipoparatiroidismo aparece generalmente como resultado de la extirpación quirúrgica de las gándulas paratiroides. Como ya se ha comentado anteriormente, la hormona paratiroidea estimula la síntesis de calcitriol, por lo que el hipoparatiroidismo se acompaña de una disminución en la síntesis de esta vitamina. En consecuencia, los pacientes afectados de esta enfermedad producen cantidades inadecuadas de vitamina D en respuesta a la hipocalcemia. La administración de 25(OH) vitamina D_3, 1α (OH) vitamina D_3, calcitriol, dihidrotaquisterol o vitamina D_2 son efectivas en el tratamiento de estos pacientes, siempre que la ingesta de calcio sea adecuada. La 25(OH)vitamina D_3 es la molécula más efectiva de las utilizadas.

El hipoparatiroidismo cursa con convulsiones y espasmos tetánicos, por lo que los pacientes que padecen esta enfermedad son frecuentemente sometidos a terapia con anticonvulsivantes antes de que se detecte la verdadera patología. Como se ha indicado el uso prolongado de anticonvulsivantes acelera la degradación metabólica de la vitamina D, lo que podría acentuar la sintomatología de la enfermedad.

12.3. Raquitismo tipo I dependiente de vitamina D

El raquitismo tipo I dependiente de vitamina D es una enfermedad hereditaria con carácter autosómico recesivo que se caracteriza por la existencia de niveles anormalmente bajos en sangre de calcio y fósforo, además de la aparición de retraso en el crecimiento, anormalidades óseas características del raquitismo y miopatía. Cuando se comparan los signos de esta enfermedad con los de la hipocalcemia familiar, se observa que la aparición de los síntomas es más temprana en el raquitismo dependiente de vitamina D y que responde mejor a la administración de la vitamina. Además, la miopatía es característica de esta enfermedad.

La causa del raquitismo tipo I es la deficiencia en la actividad 25(OH) vitamina D_3 1α-hidroxilasa, lo que da lugar a la existencia de niveles séricos anormalmente bajos de calcitriol y, entre otros efectos, la consecuente disminución en la absorción intestinal de calcio. Se ha demostrado que existen múltiples mutaciones en el gen que codifica esta enzima responsables de la enfermedad.

La administración diaria de calcitriol es suficiente para contrarrestar los síntomas de la enfermedad.

12.4. Raquitismo tipo II dependiente de vitamina D

El raquitismo tipo II dependiente de vitamina D es una enfermedad autosómica recesiva poco frecuente. Esta enfermedad se caracteriza por la aparición de raquitismo u osteomalacia con hipocalcemia e hiperparatiroidismo secundario. A diferencia del raquitismo tipo I, esta enfermedad está asociada a valores séricos normales de calcitriol. Es bien conocido que esta enfermedad se debe a mutaciones específicas en el DNA del *hVDRnuc1,25*, dando lugar a una forma de resistencia periférica a las acciones del calcitriol. Los niveles séricos de 25(OH) vitamina D$hVDR_3$ son normales, mientras que los de calcitriol están elevados y los del 24-R-calcitriol son indetectables. Los signos clínicos y radiológicos más característicos de esta enfermedad coinciden con los del raquitismo, pudiendo estar o no asociada a la aparición de alopecia. De esta forma se distinguen dos tipos de esta enfermedad, el tipo IIA (con alopecia) y el tipo IIB (sin alopecia). El tratamiento clásico de esta enfermedad requiere dosis elevadas de calcio y vitaminas D_2 y D_3 por vía parenteral.

Como se ha indicado anteriormente, se han descrito distintas mutaciones en la secuencia de DNA del *hVDRnuc1,25* que son responsables de esta enfermedad y que afectan tanto a la unión del receptor a su ligando, como a la localización nuclear del complejo hormona-receptor, a la unión del receptor a su secuencia diana o a la unión del receptor a un coactivador.

Otras proteínas distintas del hVDRnuc1,25 pueden ser también responsables de raquitismo. Así, es interesante resaltar que recientemente se ha descrito la existencia de casos de raquitismo con alopecia en pacientes con VDRnuc1,25 normal. Se ha demostrado que estos pacientes sobreexpresaban una proteína nuclear llamada proteína de unión al elemento de respuesta de la vitamina D (***V****itamin* ***D*** ***R****esponse* ***E****lement* ***B****inding* ***P****rotein*, VDRE-BP) que compite con el dímero VDR-RXR por la unión a la VDRE, actuando como reguladora.

13. Resumen

- El raquitismo y la osteomalacia son producidos por la deficiencia prolongada de vitamina D. Ambos transtornos se conocen desde la Antigüedad, ya que tuvieron una incidencia bastante alta en siglos pasados y aún son prevalentes en ciertos grupos de población. Los ancianos, los niños y aquellas personas que por cualquier causa no reciben suficiente luz solar, son grupos de riesgo de deficiencia de vitamina D. La deficiencia continua de vitamina D produce la aparición de raquitismo y osteomalacia. Ambos términos engloban el mismo trastorno, aunque el término raquitismo es utilizado cuando se produce en niños, mientras que el de osteomalacia se utiliza para adultos. Los signos más característicos del raquitismo afectan al esqueleto y consisten en la aparición de deformaciones óseas. La administración de dosis altas de vitamina D por vía oral durante unos meses es suficiente para curar ambos trastornos.

- En los últimos años, la vitamina D y el desarrollo de análogos de esta vitamina están cobrando gran importancia, ya que cada vez es mayor el número de procesos fisiológicos en cuya regulación interviene esta vitamina. Además, y como consecuencia de lo anterior, la incidencia de diversas enfermedades como el cáncer, la esclerosis múltiple, la hipertensión o la enfermedad inflamatoria intestinal se ha relacionado con niveles bajos de vitamina D, e incluso se ha demostrado que la administración de esta vitamina puede ser beneficiosa en el tratamiento de dichas enfermedades.

- Por sus características, actualmente se considera que la vitamina D es una vitamina y una hormona. Así, es un compuesto orgánico que actúa como micronutriente y su ingestión es necesaria para la mayoría de las poblaciones urbanas; de aquí que se considere una vitamina. No obstante, la suplementación con vitamina D es innecesaria en individuos que son capaces de completar sus requerimientos mediante síntesis endógena de vitamina D y de metabolitos activos de ésta (el calcitriol y el 24-R-calcitriol). Estos metabolitos actúan sobre distintos órganos diana, por lo que pueden ser considerados hormonas, y la vitamina D una prohormona.

- La síntesis endógena de vitamina D incluye la activación por irradiación (luz solar) del 7-deshidrocolesterol, un metabolito del colesterol que se produce en el hígado y es exportado a la piel. La vitamina D producida en la piel es a continuación metabolizada sucesivamente en el hígado (por la 25-hidroxilasa) y el riñón (por la 1α-hidroxilasa y por la 24R-hidroxilasa), produciéndose en condiciones normales las formas activas que actúan sobre distintos órganos diana. La enzima clave en la regulación de la vitamina D es la 1α-hidroxilasa renal. Esta enzima se regula en función del calcio circulante, interviniendo en la regulación la hormona paratiroidea (PTH) y el propio metabolito de la enzima. Así, una disminución de la concentración sérica de calcio estimula la liberación de PTH, que a su vez estimula la síntesis del calcitriol, mientras que el calcitriol produce mediante *feed-back* negativo la inhibición de la enzima y la estimulación de la 24R-hidroxilasa, lo que a su vez favorece la formación de 24,1α,25$(OH)_2$ vitamina D_3, que es el principal metabolito inactivo del calcitriol.

- Los órganos diana de la vitamina D están definidos por la presencia de tres receptores distintos a través de los cuales la vitamina D ejerce su acción. Así, el metabolito principal de la vitamina D (calcitriol) se puede unir al receptor nuclear de vitamina D (***V**itamin **D R**eceptor*, VDRnuc1,25) y al receptor de membrana de vitamina D (VDRmem1,25). Por su parte, el 24-R-calcitriol se une a otro receptor de membrana denominado VDRmem24,25. En general, la función del receptor nuclear está relacionada con la respuesta genómica a nivel transcripcional, mientras que los receptores de membrana median las llamadas respuestas biológicas rápidas (no transcripcionales) de la vitamina D, que implican la estimulación de cascadas de transducción de señal.

- El receptor nuclear de la vitamina D ha sido objeto de intensos estudios en los últimos años. Su importancia radica en que se encuentra ampliamente distribuido en distintos tipos de células y además media las acciones de la vitamina D desconocidas hasta hace unos años, sobre órganos diana también desconocidos hasta hace poco tiempo. Además, mutaciones en este receptor son responsables de la aparición de raquitismo tipo II dependiente de vitamina D.

- La vitamina D_3 participa de manera activa en la regulación de la homeostasis mineral, concretamente en el mantenimiento de la concentración circulante de calcio. Así, los metabolitos activos de la vitamina D incrementan la absorción intestinal de calcio a la vez que disminuyen su excreción renal. Además, actúan sobre el hueso estimulando la movilización del calcio óseo (resorción ósea).

- Recientemente, se ha descrito que la vitamina D actúa sobre múltiples dianas, regulando procesos como la diferenciación celular, la proliferación celular o la apoptosis. Se ha descrito que esta vitamina induce la diferenciación celular y la apoptosis, mientras que es capaz de inhibir la proliferación celular. Por otra parte, la vitamina D es capaz de actúar sobre el sistema inmune, el sistema nervioso o el sistema renina-angiotensina. De hecho, como se ha comentado anteriormente, se ha relacionado la presencia de niveles bajos de vitamina D con la mayor incidencia de enfermedades como el cáncer, la enfermedad inflamatoria intestinal, la esclerosis múltiple, la hipertensión o la artritis reumatoide.

14. Bibliografía

Aranceta J, Serra Majem L, Ortega R, Entrala A, Gil A. Libro blanco. Las vitaminas en la alimentación de los españoles. Estudio eVe. Editorial Médica Panamericana. Madrid, 2000. ISBN: 84-7903-578-1.
Información detallada sobre la ingesta de vitaminas en la población española según grupos de edad y sexo. Además, se definen los grupos de riesgo de deficiencia en vitaminas de la población española y se recogen los criterios de suplementación de vitaminas en España.

Bender DA. Vitamin D. En: Bender DA (eds.). Nutritional Biochemistry of the Vitamins, 2nd ed. Cambridge University Press. Cambridge, UK, 2003; Chapter 3: 77-108.
Capítulo que recoge información actualizada sobre la vitamina D.

Bronner F. Mechanisms of intestinal calcium absorption. J Cell Biochem 2003; 88: 387-93.
Artículo que revisa los conocimientos en los mecanismos que regulan la absorción intestinal de calcio.

Garcion E, Barbot-Wion N, Monetero-Menei CN, Berger F, Wion D. New clues about vitamin D functions in the nervous system. Trends in Molec Med 2002; 13: 100-5.
Artículo que revisa los efectos neuroprotectores e inmunomoduladores de la vitamina D y el papel potencial que los análogos de esta vitamina podrían tener en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y neuroinmunes.

Jurutka PW, Whitfield GK, Jsieh JC, Thompson PD, Haussler CA, Haussler MR. Molecular nature of the vitamin D receptor and its role in regulation of gene expression. Rev Endocr Metab Disord 2001; 2: 203-16.
Revisión en la que se recoge en detalle y de manera comprensible la información disponible sobre el receptor nuclear de la vitamina D.

Li YC. Vitamin D regulation of the renin-angiotensin system. J Cell Biochem 2003; 88: 327-31.
Artículo que revisa las acciones de la vitamina D sobre el sistema renina-angiotensina y sus implicaciones en la regulación de la presión arterial.

Mathieu C, Adorinin L. The coming age of 1,25-hidroxyvitamin D_3 analogs as immunomodulatory agents. Trends in Molec Med 2002; 8: 174-9.
Revisión sobre los últimos avances en el estudio del mecanismo de acción de la vitamina D sobre el sistema inmune y el posible papel de la vitamina D y de sus análogos en el tratamiento de enfermedades autoinmunes y de los rechazos a injertos.

McLaren DS, Loveridge N, Duthie G, Bolton-Smith C. Fat-soluble vitamins. En: Garrow JS, James WPT (eds.). Human Nutrition and Dietetics, 9th ed. Churchil Livingston. Edimburgo, UK, 1993; Chapter 13: 208-38.
Capítulo en el que se puede obtener información clara y concisa sobre el mecanismo de acción de la vitamina D.

Norman AW, Okamura WH, Bishor JE, Henry HL. Update on biological actions of 1 alpha, 25$(OH)_2$ vitamin D_3 (rapid effects) and 24R,25$(OH)_2$ vitamin D_3. Mol Cell Endocrinol 2002; 197: 1-13.
Revisión en la que se recoge la información existente sobre los receptores de membrana de las distintas formas activas de la vitamina D y sobre las acciones mediadas por estos receptores.

Zittermann A. Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence? Br J Nutr 2003; 89: 552-72.
Artículo que recoge los argumentos a favor de la utilización de la vitamina D en la prevención de ciertas enfermedades: (1) datos epidemiológicos que han demostrado una relación entre niveles bajos de vitamina D y enfermedades como el cáncer o la esclerosis múltiple y (2) estudios clínicos que han demostrado efectos beneficiosos de la vitamina D en la hipertensión, la diabetes, la artritis reumatoide o la esclerosis múltiple.

15. Enlaces web

- www.beyonddiscovery.org
- www.cc.nhi.gov/ccc/supplements/vitd.html#rda
- www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/
- medlineplus.gov/spanish/
- vdr.bu.edu/

1.25. Metabolismo hidromineral: agua y electrólitos

José Miguel López Novoa

Capítulo 1.25.

Metabolismo hidromineral: agua y electrólitos

1. Introducción

2. Conceptos generales

2.1. Contenido en agua del organismo

2.1.1. Edad

2.1.2. Tejido adiposo

2.1.3. Sexo

3. Compartimentos líquidos del organismo

3.1. Composición de los compartimentos líquidos

3.2. Regulación de los compartimentos líquidos

3.3. Intercambio de agua y electrólitos entre el interior y el exterior del organismo

3.3.1. Ingesta de agua

3.3.2. La sed

4. Electrólitos

4.1. Sodio

4.2. Cloruro

4.3. Potasio

5. Función renal

5.1. Generalidades

5.2. El flujo sanguíneo renal y su regulación

5.2.1. Autorregulación del flujo sanguíneo renal

5.2.2. Regulación exógena del FSR

5.2.3. Medida del flujo sanguíneo renal

5.3. La filtración glomerular y su regulación

5.3.1. Medida del filtrado glomerular

5.4. Mecanismos de transporte a lo largo de la nefrona

5.4.1. Túbulo proximal

5.4.2. Asa de Henle

5.4.3. Túbulo distal

5.4.4. Túbulo conector y túbulo colector

5.5. Regulación de la reabsorción tubular

5.5.1. Aldosterona

5.5.2. Hormona antidiurética

5.5.3. Péptido natriurético auricular

6. Balance de sodio

7. Balance de potasio

8. Regulación del balance de agua
8.1. Mecanismos de concentración y dilución urinaria
8.2. Concepto de agua libre
8.3. Regulación de la sed

9. Resumen

10. Bibliografía

11. Enlaces web

Objetivos

- Describir el contenido en agua del organismo y sus posibles variaciones.
- Comprender las características principales de los diferentes compartimentos líquidos del organismo y su regulación.
- Describir los principales electrólitos de nuestros líquidos corporales y sus funciones.
- Comprender cómo la función renal es el determinante básico que regula el balance de agua y electrólitos en el organismo.
- Comprender los mecanismos involucrados en la regulación del flujo sanguíneo renal.
- Definir la filtración glomerular y explicar su regulación y los métodos para cuantificarla.
- Explicar los mecanismos de transporte de agua y electrólitos presentes en cada uno de los segmentos de la nefrona.
- Describir los mecanismos involucrados en la regulación de la reabsorción y secreción tubular.
- Comprender los mecanismos involucrados en el mantenimiento del balance de sodio y de potasio.
- Describir la regulación del balance de agua, incluyendo los mecanismos de concentración y dilución urinaria, y la regulación de la sed.
- Definir el concepto de agua libre.

1. Introducción

La mayor parte de las reacciones químicas que sostienen los procesos vitales en los mamíferos superiores ocurren en un medio líquido formado por agua en la que están disueltas diversas sales minerales, hidratos de carbono, proteínas y otros componentes en menor cuantía. Pero el agua no actúa solamente como solvente, sino que participa activamente como substrato en numerosas reacciones químicas y es producto final de todas las reacciones de oxidación. El agua es esencial en todos los procesos fisiológicos que requieran transporte convectivo, o sea, con flujos netos de líquido, como es el caso de la absorción de nutrientes en el tubo digestivo, y la excreción renal. Asimismo, la funcionalidad del aparto circulatorio está basada en el hecho de que la sangre, al poseer una gran fluidez debido a su gran contenido en agua extracelular, puede ser fácilmente transportada a todos los tejidos.

El agua también juega un papel fundamental en la homeostasis de la temperatura corporal. Por un lado, debido a su elevado calor específico, es capaz de captar una gran cantidad de energía térmica (calorías) variando relativamente poco su temperatura. También contribuye el agua a dicha función mediante la sudoración y la transpiración. La evaporación de 1 litro de agua en la superficie de la piel disipa alrededor de 600 kcal del organismo.

Por otro lado, los electrólitos mantienen el equilibrio osmótico entre los diversos compartimentos líquidos de nuestro organismo. Además, las diferencias en las concentraciones de los diversos iones entre estos compartimentos son los responsables de los potenciales transmembrana y, por lo tanto, de los fenómenos de excitación celular.

En este Capítulo se va a hacer una revisión general de las funciones básicas del agua y los electrólitos, de su distribución, de la regulación del contenido corporal de los mismos por parte del riñón.

2. Conceptos generales

2.1. Contenido en agua del organismo

En nuestro organismo el agua es el componente individual de mayor magnitud, y representa una media de un 60% del peso corporal, lo cual, para un individuo de 70 kg, representaría unos 42 litros de agua **(Figura 1)**.

Sin embargo, el contenido de agua varía mucho entre los diversos tejidos, siendo máximo en las células de músculos y vísceras, y mínimo en el tejido adiposo y tejidos calcificados **(Tabla 1)**.

El contenido corporal total de agua presenta notables variaciones entre los diversos individuos. Estas variaciones vienen determinadas fundamentalmente por la edad, la cantidad de tejido adiposo y el sexo.

Tabla 1. CONTENIDO EN AGUA DE LOS DIVERSOS ÓRGANOS O TEJIDOS EN UN ADULTO JOVEN

Órgano o tejido	Contenido en agua (%)
Riñón	> 80
Pulmón	> 80
Corazón	79
Músculo esquelético	75
Piel	70
Hueso	20
Tejido adiposo	10

2.1.1. Edad

Cuanto mayor es la edad, menor es el contenido de agua de nuestro organismo. Esto ha de tenerse especialmente en cuenta para mantener una correcta hidratación en los casos más extremos de la vida, los recién nacidos y los ancianos. En los recién nacidos el contenido de agua es muy grande, pudiendo llegar hasta cerca de un 80%. Sin embargo, el riesgo de pérdidas de agua por vómitos, sudoración, o diarreas también puede ser muy grande, con lo que este aparente exceso de agua sirve de colchón frente a las pérdidas frecuentes. Es por ello que los niños de menos de un año son

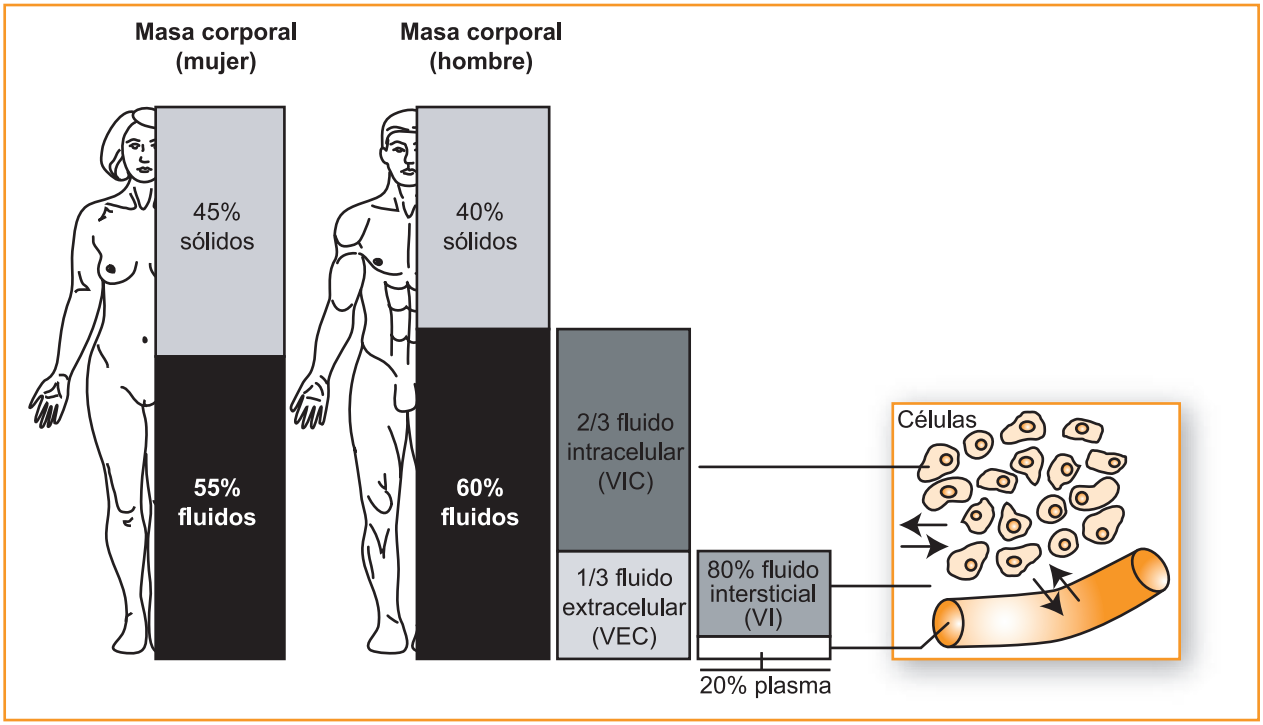


Figura 1. *Contenido promedio del agua corporal y distribución en sus diversos compartimentos en el hombre y en la mujer.*

muy susceptibles a la deshidratación, y ésta es un hallazgo frecuente en las urgencias hospitalarias.

Por el contrario, los ancianos tienen un contenido en agua tan bajo como un 45%, estando muy cercano al límite mínimo compatible con la función normal. Esto, unido a alteraciones en los mecanismos de concentración urinaria y en la sed, hace que también sean muy susceptibles a la deshidratación, y que la pérdida de cantidades de agua relativamente pequeñas conlleve alteraciones muy importantes que ponen en riesgo la vida de los sujetos.

2.1.2. Tejido adiposo

Cuanto mayor es el contenido en tejido adiposo del organismo, menor es el porcentaje de agua total del mismo. Esto se explica con facilidad al saber que en las células del tejido adiposo la mayor parte del citosol ha sido sustituido por vacuolas que contienen lípidos, fundamentalmente triglicéridos, que apenas contienen agua. Por lo tanto, el agua total del organismo no se relaciona directamente con el peso del individuo, sino con su peso magro, o sea, con su peso si se le resta el contenido en grasa. De hecho, el agua corporal total representa un 73% del peso magro, y este porcentaje apenas varía de individuo a individuo. El peso magro no es fácil de calcular, por lo que frecuentemente se utiliza otro parámetro, la superficie corporal, que está más relacionada con el peso magro que con el peso total.

2.1.3. Sexo

Las mujeres tienen, en promedio, una menor cantidad de agua que los varones, debido a que, también en promedio, su proporción de tejido adiposo es mayor.

3. Compartimentos líquidos del organismo

El medio líquido está dividido en dos compartimentos principales separados por las membranas celulares: el compartimento extracelular y el intracelular, con características físico-químicas diferentes pero idéntica osmolaridad. El mayor de ellos es el compartimento intracelular, que siendo más precisos, es el sumatorio de millones de compartimentos formados por el citosol de cada una de las células de nuestro organismo. Este compartimento representa aproximadamente dos terceras partes del agua corporal total, o sea, unos 28 litros. El menor es el **compartimento extracelular**, o **volumen extracelular** (VEC), que representa, por lo tanto, unos 14 litros. A su vez, el compartimento extracelular puede subdividirse en otros dos, el líquido que rodea a las células de los tejidos sólidos, o **líquido intersticial** (VI), y el líquido correspondiente al plasma sanguíneo. Estos dos compartimentos representan, respectivamente, las tres cuartas partes ($\simeq$ 10,5 l) y la cuarta parte ($\simeq$ 3,5 l) del volumen extracelular **(Figura 1)**.

3.1. Composición de los compartimentos líquidos

El compartimento intracelular y el extracelular tienen la misma osmolaridad total, pero su composición en sustancias disueltas es completamente diferente. La concentración de los principales aniones y cationes en los compartimentos líquidos se representa en la **Figura 2**. El principal catión del líquido extracelular es el sodio, mientras que los principales aniones son el cloruro y el bicarbonato **(Tabla 2)**. Por lo tanto, estos tres iones son los principales determinantes de la osmolaridad del líquido extracelular. Es más, esta osmolaridad puede calcularse aproximadamente multiplicando la concentración de sodio por 2.

La composición del líquido intracelular es más difícil de medir y puede variar considerablemente de un tejido a otro. Los principales aniones del líquido intracelular son el fosfato, las proteínas (que son aniones a pH fisiológico) y otros aniones orgánicos, mientras que la concentración de cloruro es muy baja. El catión principal es el potasio, seguido por el magnesio, mientras que la concentración de sodio es muy baja **(Tabla 2)**. La concentración de calcio en el líquido intracelular es casi 1.000 veces menor que en el líquido extracelular. Estas diferencias en concentraciones iónicas entre el líquido intra y extracelular son fundamentales para la generación de los potenciales de reposo, la excitación celular, la transmisión nerviosa, la secreción y la contracción muscular.

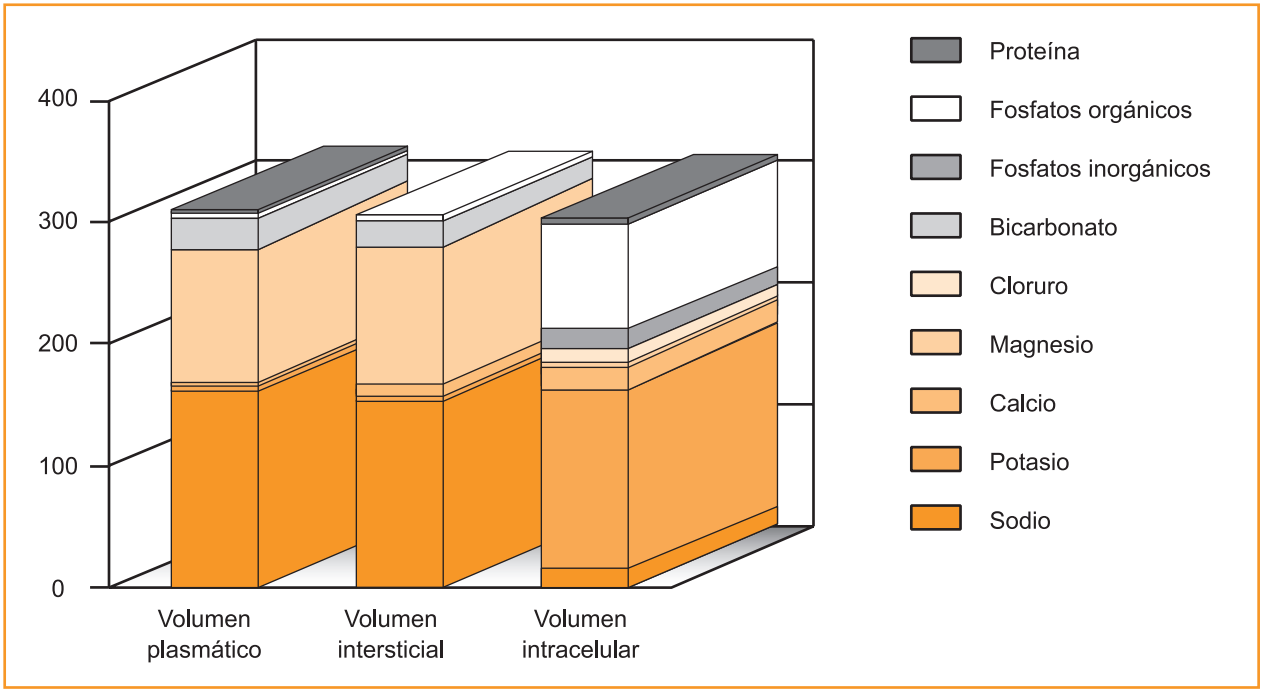


Figura 2. *Concentración de los iones más importantes en los diferentes volúmenes líquidos del organismo.*

Tabla 2. COMPOSICIÓN IÓNICA DE LOS VOLÚMENES LÍQUIDOS DEL ORGANISMO (mmol/l)

Iones	Plasma	Vol. intersticial	Vol. intracelular
Na	142	145	14
K	4	4	160
Cl	101	114	1
Ca	2	1	1
Mg	1	1	31
Bicarbonato	27	31	10
Sulfato	0,5	0,5	10
Fosfatos	1	1	50
Proteinatos	2	1	8
Aniones orgánicos	6	8	?

3.2. Regulación de los compartimentos líquidos

Mediante procesos activos y pasivos, el líquido intracelular se mantiene en constante intercambio con el líquido extracelular. El agua pasa de uno a otro compartimento de forma pasiva, a favor de gradientes osmóticos. El sodio, el potasio o el calcio atraviesan las membranas plasmáticas de forma pasiva a través de canales iónicos a favor de gradientes de concentración (químicos) y de carga (eléctricos). Sin embargo, estos intercambios pasivos no eliminan los gradientes existentes debido a la presencia en las membranas plasmáticas de transportadores activos (bombas) que transportan los iones en sentido contrario y, por lo tanto, contra gradientes electroquímicos, utilizando para ello la energía obtenida en la degradación metabólica del ATP; son, por lo tanto, ATPasas. La más importante es la Na,K-ATPasa, o bomba de sodio, que transporta sodio desde el interior al exterior de la célula y potasio en sentido contrario. También es importante la Ca-ATPasa, que saca calcio de las células.

Cuando se añade agua al líquido extracelular (p. ej., después de beber copiosamente, o tras la infusión intravenosa de suero glucosado) se reduce la osmolaridad de este compartimento. Por lo tanto, al ser las membranas permeables al agua, el agua entra pasivamente a favor de un gradiente osmótico desde el líquido extracelular al líquido intracelular, por lo que la osmolaridad de ambos compartimentos queda igual, pero más baja que antes de añadir el agua, y con un mayor volumen en ambos compartimentos. Sin embargo, cuando se añade cloruro sódico al líquido extracelular (ingesta de un alimento con mucho sodio o infusión intravenosa de suero salino), este sodio se queda exclusivamente en el líquido extracelular, por lo que sólo este compartimento aumenta de volumen.

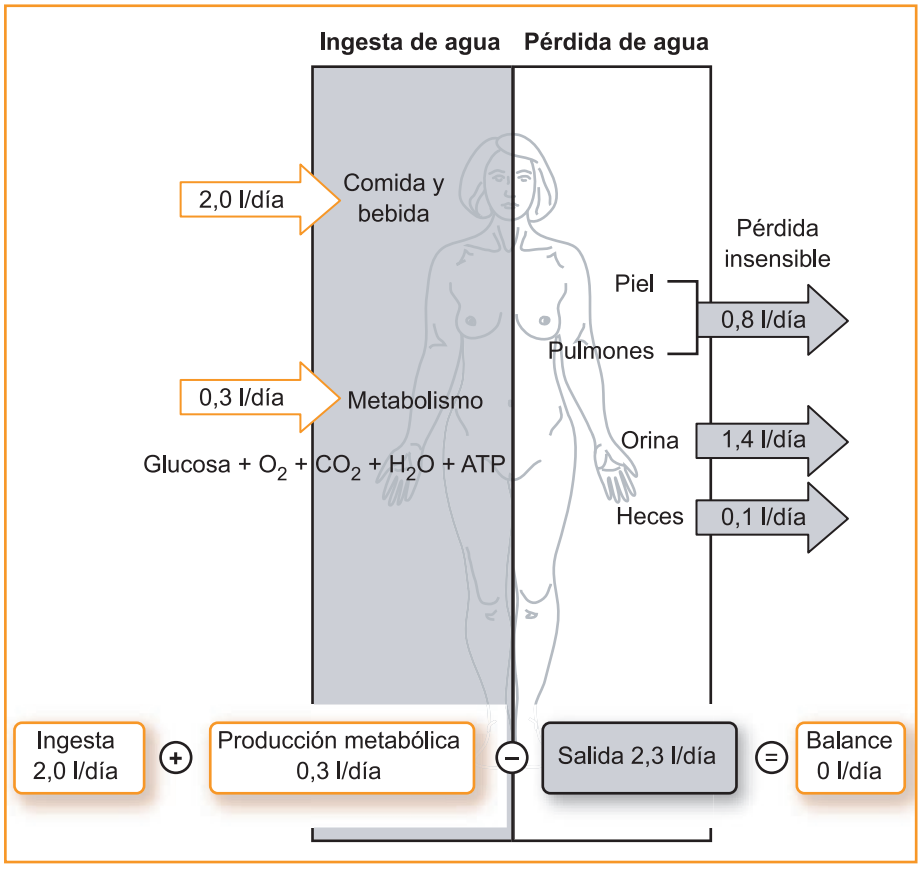


Figura 3. *Ingestas y pérdidas de agua por las diversas vías en condiciones normales.*

Tanto el volumen como las propiedades fisicoquímicas del líquido intra y extracelular, incluyendo la composición individual de los diferentes solutos, deben mantenerse dentro de unos estrechos márgenes para que las células funcionen normalmente. Diversos factores tienden a modificar el volumen y la composición del líquido extracelular: los más importantes son la ingesta o eliminación de agua y electrólitos y la adición al medio de productos de desecho del metabolismo celular.

3.3. Intercambio de agua y electrólitos entre el interior y el exterior del organismo

En el organismo existe una regulación activa para mantener la constancia del medio interno de cara a todas las circunstancias que pudieran alterarlo. Esta regulación activa se basa fundamentalmente en dos sistemas que ejercen independientemente su capacidad reguladora: el ajuste de la ingesta por parte del aparato digestivo (sed, apetito) y el ajuste de las eliminaciones por el riñón. También, y de una forma menor, la composición del líquido intersticial puede ser regulada por otros sistemas. Por ejemplo, el aparato respiratorio regula la concentración de CO_2 del plasma, y por lo tanto el equilibrio ácido base del mismo. El agua y los electrólitos, que en condiciones fisiológicas penetran al organismo exclusivamente a través del aparato digestivo, pueden perderse no sólo por el riñón, sino también por otros múltiples sistemas como la piel (transpiración, sudor), el aparato respiratorio (agua en el aire expirado) o el aparato digestivo (agua en heces) **(Figura 3)**. La diferencia fundamental entre el riñón y el resto de los sistemas se basa en el hecho de que el riñón ajusta la cantidad de agua y electrólitos eliminados en función de la composición de los volúmenes líquidos del organismo,

Tabla 3. CONTENIDO EN AGUA DE ALGUNOS ALIMENTOS COMUNES*

Vegetales	
Lechuga	96%
Col	95%
Pepinos	95%
Sandía	92%
Brócoli cocido	91%
Espinacas	91%
Zanahorias crudas	89%
Naranjas	87%
Manzanas	84%
Uvas	81%
Patatas cocidas	77%
Plátanos	74%
Maíz hervido	65%
Otros alimentos	
Huevos	75%
Pescado al horno	74%
Pollo magro a la plancha	70%
Filete de ternera a la plancha	59%
Queso	30-40%
Pan	37%
Bizcocho	34%
Mantequilla	15%
Galletas	3%
Azúcar	1%
Aceite vegetal	0%

**En estos datos no se tiene en cuenta el agua producida por el metabolismo de los principios inmediatos que contienen.*

mientras que, en los otros sistemas, el ajuste de la eliminación de agua y electrólitos tiene funciones, como, por ejemplo, la termorregulación (sudor), la eliminación de restos indigeribles o la hidratación del epitelio respiratorio. Para mantener constante la cantidad de agua del organismo, cada día ha de equilibrarse la cantidad ingerida y la cantidad eliminada a través de los diversos sistemas **(Figura 3)**. Las magnitudes del intercambio de agua y electrólitos entre el interior y el exterior del organismo a través de cada sistema es muy variable dependiendo de numerosas circunstancias, como pueden ser la temperatura y la humedad externa, la temperatura corporal, el ejercicio, la composición de las heces. Dichas magnitudes en diversas circunstancias se expresan en la **Tabla 3**. El organismo dispone de un complejo sistema de control que hace que la cantidad de agua referida al peso magro (libre de grasa) se mantenga prácticamente constante en condiciones de ausencia de enfermedad.

3.3.1. Ingesta de agua

De acuerdo con lo visto anteriormente, las necesidades diarias de agua de los individuos dependen mucho de las circunstancias externas. En condiciones normales las necesidades de agua vienen a ser de unos 35 ml/kg de peso corporal en los adultos y de 50 a 60 ml/kg en los lactantes. Los lactantes tienen una mayor necesidad de agua debido a que sus riñones tienen una capacidad limitada para producir orina concentrada y, por lo tanto, pierden más agua para la misma cantidad de solutos eliminados. El suministro de agua no proviene solamente de la ingesta de líquidos, pues muchos alimentos sólidos contienen una gran cantidad de agua **(Tabla 4)**. También se produce agua en la oxidación de los principios elementales **(Tabla 5)**.

Cuando la ingesta de agua es inferior a la eliminación, se produce deshidratación. Por lo mencionado anteriormente, ésta es una circunstancia muy frecuente en lactantes y ancianos. Los signos de deshidratación son: falta de turgencia y flacidez de la piel, orina muy concentrada, y con poco volumen, sequedad de mucosas, taquicardia, desorientación. La deshidratación tiene efectos muy negativos en el funcionamiento del organismo, que dependen del grado de pérdida de agua. Cuando se pierde entre el 1 y el 2% del peso corporal, la única consecuencia es la aparición de sed. Pérdidas del 3-4% conllevan una disminución del volumen sanguíneo y alteración en el rendimiento físico. Deshidrataciones mayores producen dificultad para concentrarse, desorientación, y fallos en la regulación de la temperatura corporal. Entre el 8 y el 10% se producen lipotimias, espasmos musculares, delirios, y a partir del 11% fallos circulatorios y renales.

La intoxicación hídrica ocurre como resultado de un exceso de ingesta de agua con respecto a su eliminación, lo que lleva como consecuencia un aumento del volumen del líquido intracelular y una disminución de la osmolaridad de los líquidos corporales. El aumento del volumen celular en las neuronas produce síntomas tales como cefaleas, náuseas, vómitos, ceguera, contracciones musculares involuntarias, convulsiones y, a veces, la muerte del paciente. Esta intoxicación solamente sobreviene cuando el riñón no es capaz de ajustar la excre-

Tabla 4. VÍAS DE ELIMINACIÓN DE AGUA (ml)

Vía	Condiciones normales	Clima cálido	Ejercicio intenso
Orina	1.400	1.200	500
Heces	100	100	100
Piel (sudoración)	100	1.400	5.000
Piel (perspiración insensible)	350	350	350
Respiración	350	250	650
Total	**2.300**	**3.300**	**6.600**

Tabla 5. PRODUCCIÓN METABÓLICA DE AGUA

Principio inmediato (100 g)	Agua (ml)
Grasas	107
Hidratos de carbono	55
Proteínas	41

ción de agua debido a un exceso de producción de hormona antidiurética (ADH), lo que ocurre como consecuencia de traumatismos craneales o intervenciones quirúrgicas.

3.3.2. La sed

En los individuos sanos el consumo de agua es controlado fundamentalmente por la sed. Sin embargo, en lactantes, ancianos, personas tras un ejercicio intenso o en diversas enfermedades puede reducirse la sensación de sed, con lo que se corre el riego de deshidratación. Los mecanismos de regulación de la sed se explican detalladamente en el apartado 8.3.

4. Electrólitos

Una buena parte de los solutos disueltos en el agua del organismo son electrólitos, es decir, sustancias que al disolverse en agua se disocian en iones, que son partículas con carga positiva (cationes) o negativa (aniones). Los electrólitos pueden ser sales inorgánicas (cloruros, bicarbonato, fosfatos, sulfatos de sodio o potasio) o moléculas orgánicas simples (lactatos) o complejas (proteinatos).

4.1. Sodio

El sodio es el principal catión del líquido extracelular y él solo es responsable de la mitad de la presión osmótica de este compartimento. Del 30 al 40% del sodio corporal está fijado en el esqueleto, y su capacidad de intercambio con el de los líquidos corporales es muy baja. La cantidad de sodio del organismo es un regulador fundamental del volumen extracelular y, por lo tanto, del volumen de sangre y de numerosos parámetros cardiovasculares como el gasto cardiaco o la presión arterial. La ingesta de sodio proviene fundamentalmente del sodio contenido en los alimentos. El contenido de sodio de los alimentos sin procesar es bajo y raramente puede cubrir las necesidades mínimas del ser humano. Las frutas y verduras prácticamente no contienen sodio, mientras que las carnes y pescados contienen algo más. Sin embargo, la mayor parte del sodio ingerido proviene del cloruro sódico (sal de mesa común) que se añade a los alimentos durante su cocinado o su preparación industrial.

Los alimentos que contienen más sodio son aquellos que sufren procesos de salado y curación, como jamones, cecinas, embutidos, chacinas, y

Tabla 6. REQUERIMIENTOS MÍNIMOS DE ELECTRÓLITOS EN PERSONAS SANAS SEGÚN LA EDAD

Edad (años)	Peso (kg)	Sodio (mg)	Cloruro (mg)	Potasio (mg)
0-0,5	4,5	120	180	500
0,5-1	9	200	300	700
2-5	16	300	500	1.400
6-9	25	400	600	1.600
10-18	50	500	750	2.000
> 18	70	500	750	2.000

pescados en salazón. En general, todos los alimentos procesados industrialmente contienen cantidades relativamente altas de sal.

El consumo medio de sodio en los países occidentales es de unos 4-5 g diarios (170-200 mEq/día). En España el consumo medio es algo superior (6-7 g/día). Los requerimientos mínimos de sodio son mucho menores, y aparecen en la **Tabla 6**. El exceso de consumo de sal se asocia a hipertensión en muchos individuos. El sodio se absorbe rápidamente y en una gran proporción en el intestino y pasa al líquido extracelular. La eliminación de sodio se hace fundamentalmente por los riñones en la orina.

También pueden perderse cantidades importantes de sodio en las heces en caso de diarrea, y por la piel en caso de sudoración intensa. La eliminación de sodio ha de ser igual a la ingesta para mantener constante el volumen extracelular y la función cardiovascular. El balance entre ingesta y eliminación de sodio es una de las funciones principales del riñón, que regula también de esta manera el volumen extracelular, la función cardiovascular y la presión arterial.

4.2. Cloruro

El cloruro es el principal anión del líquido extracelular, y junto con el sodio da cuenta de la mayor parte de la presión osmótica de este compartimento. Ambos, junto con el sulfato, el fosfato y el bicarbonato, mantienen el equilibrio ácido-básico de los líquidos del organismo. La mayor parte del cloruro que se ingiere proviene de la sal de mesa (60% de cloruro) que se añade a los alimentos en sus diversas fases de preparación. La cantidad de cloruro de los alimentos sin preparación es muy baja. La cantidad de cloruro que se ingiere con el agua, incluso en aguas cloradas, es muy baja. La ingesta media de cloruro en los países occidentales oscila entre 6 y 7 g (170-200 mEq) por día, siendo algo mayor en España. Los requerimientos mínimos de cloruro son mucho menores, y aparecen en la **Tabla 6**.

La eliminación de cloruro se hace fundamentalmente por los riñones en la orina aunque también pueden perderse cantidades importantes en las heces en caso de diarrea, y por la piel en caso de sudoración muy intensa.

4.3. Potasio

El potasio es el principal catión de líquido intracelular, por lo que juega un papel fundamental en el mantenimiento del equilibrio osmótico de este compartimento. Alrededor de un 98% del potasio está en el compartimento intracelular, mientras sólo un 2% está en el extracelular. La concentración de potasio en el LEC es de alrededor de 4-5 mEq/l, variando entre 3,5 y 5,5 mEq/l, mientras que la concentración de potasio en LIC supera con frecuencia los 120 mEq/l. La fuente principal de potasio son los alimentos, sobre todo frutas, verduras, legumbres y carne fresca. La deficiencia en el consumo de potasio no es normal debido a la amplia distribución de este ión en los alimentos.

El requerimiento mínimo de potasio en los adultos es de 1,6 a 2 g (40-50 mEq) por día, pero la ingesta media es mucho más alta (3 o 4 veces más). El potasio se absorbe fácilmente en el intestino, y la mayor parte del potasio ingerido se elimina por la orina (90%), y el resto en las heces. En condiciones de insuficiencia renal, la secreción de potasio en el aparato digestivo (colon) juega un papel importante en el mantenimiento del balance de potasio. Sin embargo, el riñón regula de manera precisa el balance entre la ingesta y la excreción de potasio, como más adelante se detallará (*ver apartado* 7). El exceso de consumo de potasio no suele tener consecuencias de ningún tipo, excepto en el caso de disminución grave de la función renal, ya que se acumula en el plasma (hiperpotasemia) y puede producir parada cardiaca. Una hiperpotasemia confirmada puede ser así la consecuencia de tres mecanismos diferentes, que a veces pueden estar asociados:

a) Un exceso de aporte de potasio.

b) Una redistribución transcelular de potasio y una disminución de las capacidades de excreción renal del potasio.

c) Movimientos de potasio entre el volumen intracelular y el extracelular, que se modifican por diversas circunstancias, como son el equilibrio ácido-base, los niveles de insulina, catecolaminas, aldosterona o glucagón, osmolaridad plasmática, necrosis celular y fármacos o tóxicos.

Las causas más frecuentes de hiperpotasemia se muestran en la **Tabla 7**, mientras que las causas tóxicas o medicamentosas se describen en la **Tabla 8**.

La hipopotasemia es un desorden electrolítico frecuente, que se encuentra en los pacientes hospitalizados en cifras que oscilan entre un 7 y un 11%. Es más frecuente en pacientes ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos. Las causas más frecuentes son las pérdidas digestivas y por tratamiento prolongado por diuréticos que pierden potasio con administración mal controlada. Otras causas descritas en la literatura son: corticoterapias prolongadas, anorexia mental, anastomosis urétero-sigmoidea y otras, que se detallan en la **Tabla 9**. Las variaciones de la tasa de potasio sérico y del capital de potasio no son siempre paralelas, ya que hay numerosas influencias que pueden inducir hipopotasemia, independientemente de las modificaciones del potasio

Tabla 7. CAUSAS DE LAS HIPERPOTASEMIAS

Pseudohiperkaliemias

- Hiperleucocitosis
- Trombocitemia
- Hemólisis
- Anomalía membrana hematíes

Aporte de potasio

- Exógeno:
  - Aporte yatrogénico (por boca, IV)
  - Sal de régimen
  - Penicilina K (bolo IV)
  - Exanguino-transfusión
- Endógeno:
  - Rabdomiólisis
  - Aplastamiento de miembros
  - Hemólisis
  - Quimioterapia
  - Hemorragia digestiva

Redistribución transcelular del potasio

- Acidosis
- Ejercicio muscular
- Diabetes tipo 1
- Medicamentos e intoxicaciones
- Parálisis periódica familiar

Disminución de la capacidad de excreción renal del potasio

- Insuficiencia renal:
  - Insuficiencia renal aguda
  - Insuficiencia renal crónica
- Afectación del eje renina-angiotensina:
  - Insuficiencia córtico-suprarrenal
  - Enfermedad de Addison
  - Déficit enzimáticos
  - Síndrome de hipoaldosteronismo con hiporreninemia
  - Hipoaldosteronismo adquirido con hiporreninemia
  - Síndrome de hipoaldosteronismo inducido por medicamentos
- Anomalías de la secreción tubular renal del potasio:
  - Pseudohipoaldosteronismo de tipo 1
  - Pseudohipoaldosteronismo de tipo 2
  - Acidosis tubular renal distal con hiperkaliemia
  - Uropatía obstructiva
  - Transplante renal
  - Lupus eritomatoso diseminado
  - Drepanocitosis
- Inhibición de la secreción tubular renal del potasio:
  - Diuréticos ahorradores de potasio
  - Ciclosporina
  - Trimetroprim
  - Litio

Tabla 8. CAUSAS MEDICAMENTOSAS Y TÓXICAS DE LAS HIPERPOTASEMIAS

Exceso de ingesta de potasio

Cloruro de potasio
Penicilina potásica
Sal de régimen
Quimioterapia anticancerosa

Transferencia extracelular del potasio

β-bloqueantes
Succinilcolina
Digital, digoxina
Monohidrocloruro de arginina
Fluoruros
Cianuros

Defecto de excreción renal del potasio

β-bloqueantes
IECA
Captopril
Enalapril
Heparina
Antiinflamatorios no esteroideos
Indometacina
Ibuprofeno
Piroxicam
Diuréticos ahorradores de potasio
Espirolactona
Ameride
Triamtereno
Ciclosporina
Trimetroprim
Litio

total modificando el movimiento de potasio hacia el interior de la célula. Así, una alcalosis metabólica, una sobrecarga de insulina con glucosa, los agentes β-adrenérgicos y ciertas intoxicaciones tienden a desplazar el potasio extracelular hacia las células y disminuir la concentración plasmática de potasio **(Tabla 9)**. La tolerancia clínica de la hipopotasemia depende tanto de la velocidad de su instalación como de la circunstancia subyacente. Las hipopotasemias sintomáticas graves se dan sobre todo entre los pacientes de edad avanzada, con cardiopatías, y multitratados. Los síntomas más importantes de hipopotasemia son cardiacos, musculares, renales y metabólicos, y se detallan en la **Tabla 10**.

Tabla 9. CAUSAS DE HIPOPOTASEMIA

Por pérdidas de potasio

• Digestivas
- Vómitos, aspiración gástrica
- Diarreas
- Causas infecciosas
- Tumores intestinales
- Fístulas digestivas
- Síndrome de Zollinger-Ellison
- Síndrome de Verner-Morrison (cólera pancreático)
- Síndrome de malabsorción
- Abusos de laxantes
- Cortocircuito íleo-yeyunal
- Diarrea congénita al cloro

• Renales
- Diuréticos tiazídicos y del asa
- Otros medicamentos
- Antibióticos
- Cisplatino
- Litio
- L-dopa
- Intoxicación por talio
- Depleción de magnesio
- Alcalosis metabólica
- Exceso de mineralcorticoides
- Hiperaldosteronismo primario
- Síndrome de Cushing y tratamiento por los corticoides
- Hiperreninismo
- Exceso aparente de mineralcorticoides
- Afecciones renales
- Acidosis tubular renal
- Enfermedades familiares o idiopáticas: síndrome de Bartter o de Liddle

• Otras causas
- Acidosis del diabético
- Hipercalcemia
- Leucocitosis

Por entrada del potasio en las células

• Elevación del pH extracelular
• Insulina
• Fármacos β-adrenérgicos
• Parálisis periódica familiar
• Otras causas
- Intoxicación por bario y tolueno
- Intoxicación por cloroquina
- Tratamiento de la anemia y de la neutropenia
- Hipotermia
- Estados anabólicos: alimentación parenteral

Tabla 10. CONSECUENCIAS CLÍNICAS DE UNA DEPLECIÓN DE POTASIO

Cardiacas

Anomalías ECG
Anomalías de la contractilidad

Musculares

Astenia, mialgias, hipotonía muscular
Elevación de la CPK sérica
Mioglobinuria, rabdomiólisis
Insuficiencia respiratoria aguda
Paresia intestinal y vesical

Renales

Trastorno de la concentración urinaria
Disminución del débito de filtración glomerular y del débito sanguíneo renal
Retención de sodio
Aumento de la secreción de renina y de la excreción urinaria de las prostaglandinas
Alteración morfológica de los túbulos contorneados proximales

Metabólicas

Alcalosis metabólica
Intolerancia a la glucosa. Disminución de la secreción de insulina
Retraso estato-ponderal
Disminución de la síntesis y del almacenamiento de glucógeno hepático y muscular

ECG: electroencefalograma; CPK: creatina fosfokinasa.

5. Función renal

En conclusión, de todo lo anteriormente dicho se puede deducir que el riñón juega un papel fundamental en la excreción de agua y de los principales electrólitos del organismo. Por lo tanto, para poder conocer adecuadamente la regulación del equilibrio hidroelectrolítico, se debe estudiar la función del riñón y su regulación.

5.1. Generalidades

La misión del riñón es homeostática y consiste en estabilizar el volumen y las características físico-químicas del líquido extracelular, e indirectamente del compartimento intracelular mediante la formación de orina. Para ello, cada riñón cuenta con aproximadamente 1.000.000 de unidades funcionales denominadas nefronas, compuestas cada una de ellas por un ovillo capilar o glomérulo rodeado por una cápsula epitelial (cápsula de Bowman) que se continúa con un túbulo formado por células epiteliales más o menos cuboidales, y que se divide en diferentes segmentos: túbulo proximal, asa de Henle (descendente estrecha, ascendente estrecha y ascendente gruesa), túbulo contorneado distal y túbulo colector (cortical y medular) **(Figura 4)**. Cada nefrona está rodeada por una red de capilares denominados capilares peritubulares en la corteza y asa recta en la médula **(Figura 4)**. El riñón conserva el agua y los solutos presentes normalmente en el organismo; conserva los electrólitos constituyentes de los fluidos del organismo, fundamentalmente sodio, potasio, cloruro y bicarbonato; elimina el exceso de agua, electrólitos y osmoles procedentes de la ingesta; elimina los productos metabólicos de desecho (urea, creatinina, hidrogeniones) o productos tóxicos que pueden haber penetrado en el organismo. Esto se realiza mediante dos procesos fundamentales:

a) La formación de un gran volumen de ultrafiltrado (150 l/día) de líquido extracelular mediante un mecanismo pasivo de filtración transcapilar en los ovillos capilares de los glomérulos renales.

b) El procesamiento de este fluido mediante reabsorción y secreción selectiva de agua y electró-

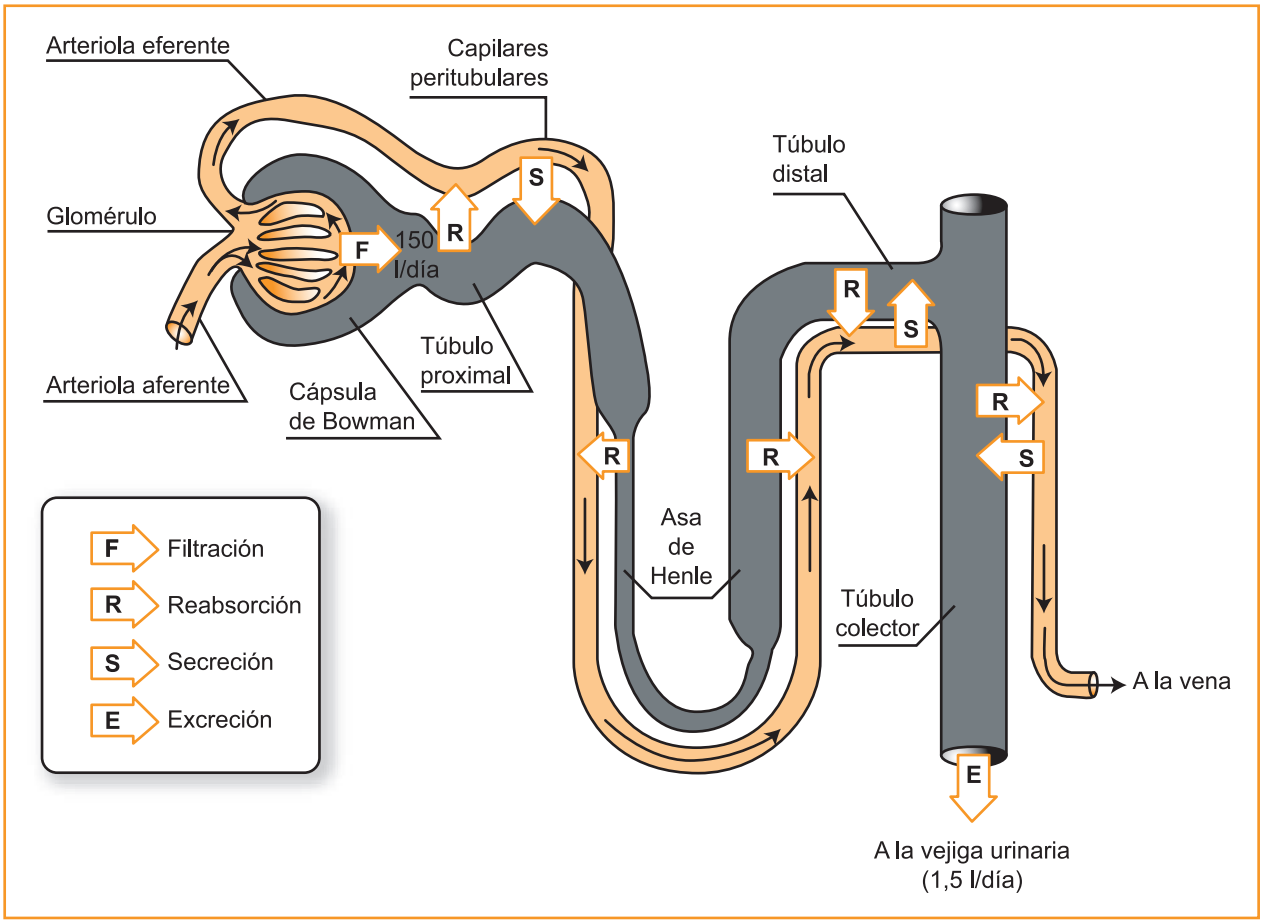


Figura 4. *Estructura general de la nefrona y esquema de los principales mecanismos que ocurren en la misma: filtración, reabsorción y secreción.*

litos, con el resultado de la producción de una cantidad de orina cuyo volumen y cuya composición dependen, en condiciones fisiológicas, del volumen y de la composición del líquido extracelular **(Figura 4)**.

De esta forma, en condiciones normales, la eliminación urinaria de los iones más importantes del líquido extracelular (Na^+, Cl^-, K^+) y del agua que los diluye es similar a la ingesta, por lo que su cantidad total en el organismo, y por lo tanto, su concentración en los diversos compartimentos líquidos, no varía. En estas circunstancias, aproximadamente el 99% del agua filtrada es conservada, permitiendo la excreción de sólo 1-2 litros diarios, una cantidad similar a la ingesta. Por lo tanto, el balance entre ingesta y eliminación urinaria de agua y de electrólitos es 0. Si la eliminación urinaria es menor que la ingesta, se produce un balance positivo, mientras que, si es mayor, el balance es negativo.

Un hecho de relevancia fisiológica fundamental es que el riñón realiza un balance 0, teniendo en cuenta las pérdidas que se producen en otros órganos (piel, intestino, pulmones), en los cuales las pérdidas vienen reguladas por factores distintos al volumen y la composición del líquido extracelular. De esta manera, el riñón consigue compensar posibles alteraciones hidroelectrolíticas producidas en otros órganos. Además, la orina normal no contiene cantidades apreciables de glucosa, aminoácidos, lactato, citrato y otras moléculas orgánicas, que son filtradas en cantidades notables. Esto se debe a que estas sustancias son reabsorbidas en su totalidad durante su paso por los túbulos renales. Los cristaloides son selectivamente conservados o excretados mediante procesos de intercambio tubular: resorción o secreción, de forma que en la orina sólo se elimina el exceso de agua o de solutos procedente de la ingesta o del metabolismo.

El riñón es capaz también de sintetizar diversas hormonas o precursores que juegan un papel importante en la regulación del sistema cardiovascular, e incluso en la propia función renal.

5.2. El flujo sanguíneo renal y su regulación

La formación de una gran cantidad de ultrafiltrado de plasma en los glomérulos renales requiere una gran irrigación sanguínea. El riñón humano normal recibe un flujo sanguíneo de alrededor de 1.200 ml/min, que, suponiendo un hematocrito de 45%, corresponde a 660 ml de flujo plasmático renal, el mayor de todos los órganos del cuerpo en relación con su peso. Esto se debe a una resistencia vascular relativamente baja, cuyos componentes se sitúan a lo largo del recorrido de la sangre a través del riñón. La primera resistencia importante está situada en la arteriola aferente, antes de iniciarse el ovillo capilar glomerular. En ella se produce, por lo tanto, una gran caída en la presión hidrostática de la sangre, que no es tanta como pudiera preverse de la magnitud de la resistencia, debido al hecho de que a la salida del ovillo capilar se sitúa otra resistencia importante, la que realiza la arteriola aferente **(Figura 4)**.

La presión hidrostática dentro de los capilares glomerulares es un parámetro dinámico regulado por la presión de perfusión renal, la resistencia de la arteriola aferente y la de la arteriola eferente, dando como resultado una presión hidrostática media de 55 mm Hg.

La presión hidrostática de la sangre en los capilares peritubulares de la corteza y en los de la médula y papila (vasos rectos) viene regulada por la presión intraglomerular, la resistencia de la arteriola eferente y la resistencia que hace el conjunto del sistema venoso. En estos capilares posglomerulares la presión hidrostática depende de la zona del riñón, pero es siempre menor que la de los capilares glomerulares.

5.2.1. Autorregulación del flujo sanguíneo renal

Una característica básica de la regulación del flujo sanguíneo por cualquier órgano, y más especialmente por el riñón, es que su "intensidad" se mantiene constante con relativa independencia de la presión arterial. Como el flujo sanguíneo depende de forma directa de la presión de perfusión, y de forma inversa de la resistencia que ese órgano ejerce frente al paso de sangre a su través, es fácil deducir que, frente a cambios en la presión de perfusión, se producen en el riñón cambios cuantitativamente similares en la resistencia vascular renal. Es ésta una propiedad intrínseca del riñón, que ocurre incluso en riñones aislados y perfundidos *ex vivo*. La respuesta adaptativa frente a los cambios de presión arterial ocurre fundamentalmente en las arteriolas aferentes, lo que permite que la presión en el interior de los capilares glomerulares se mantenga también constante, y que, por lo tanto, los cambios en presión arterial afecten sólo mínimamente al filtrado glomerular. Esta propiedad, denominada autorregulación, es operativa sólo en ciertos límites de presión arterial, que en el hombre oscilan entre 80 y 140 mm Hg.

5.2.2 Regulación exógena del flujo sanguíneo renal

Además de los procesos de autorregulación, el flujo sanguíneo renal (FSR) es modificado por distintas sustancias vasoactivas provenientes de la circulación, de las propias células renales, de células infiltrantes o residentes o de las terminales nerviosas. En cualquier caso, la modificación del FSR se basa en la modificación del grado de contracción del músculo liso vascular, sobre todo de las arterias de pequeño calibre y de las arteriolas aferentes y eferentes.

Una característica fundamental de este proceso es que, al tener las diferentes sustancias vasoactivas efectos preferenciales en cada una de las diferentes zonas vasculares, los diferentes agentes afectan también de forma diferente a las presiones en las diferentes áreas de la circulación renal.

Entre las sustancias vasoactivas cuyo efecto sobre el riñón está mejor estudiado, se pueden citar la angiotensina II, la noradrenalina, la vasopresina, la endotelina y el tromboxano A_2, entre las vasoconstrictoras, y el factor natriurético atrial, dopamina, histamina, acetilcolina, bradikinina, prostaciclina, glucagón y PGE_2, entre las vasodilatadoras. Otras sustancias como el factor activador de las plaque-

tas (PAF) o la adenosina tienen efectos variables, dependiendo de la dosis y otras circunstancias fisiológicas.

Especial importancia tiene el control por parte del endotelio del flujo sanguíneo renal. Los cambios en las relaciones físicas entre la sangre y el endotelio que tapiza los vasos (distensión, rozamiento) o la acción sobre el endotelio de sustancias provenientes de la sangre modifican la capacidad del endotelio renal para liberar sustancias vasodilatadoras (prostaciclina, óxido nítrico) o vasoconstrictoras (tromboxano A_2, endotelina).

5.2.3. Medida del flujo sanguíneo renal

La técnica clásica de aclaramiento renal para la determinación del flujo sanguíneo renal se basa en la aplicación del principio de Fick a la desaparición de una sustancia indicadora de la sangre que pasa a través de los riñones, y su aparición en la orina. Si el indicador no es sintetizado ni metabolizado por el riñón, su tasa de aparición en la orina debería ser igual a su tasa de desaparición del plasma, que, a su vez, es igual a la diferencia entre la concentración arterial y la venosa de dicha sustancia, multiplicada por el flujo plasmático renal (FPR). Esta relación puede expresarse matemáticamente por:

$$Ox \times FU = (Ax - Vx)\ FPR$$

donde "Ox" es la concentración del indicador en orina, "Ax" su concentración en plasma arterial, "Vx" su concentración en plasma venoso renal, y "FU" el flujo urinario (volumen de orina por unidad de tiempo de recogida).

Reorganizando esta ecuación, se obtiene:

$$FPR = Ox \times FU/(Ax - Vx)$$

La diferencia arterio-venosa para un indicador puede expresarse también por la fracción de extracción (E), que es la fracción del indicador que es extraído durante un solo paso del plasma por el riñón. Expresando la ecuación anterior en función de la concentración arterial del indicador y la fracción de extracción, la ecuación quedaría:

$$FPR = Ox \times FU/(E \times Ax)$$

Uno de los indicadores más frecuentemente utilizados para la estimación del flujo plasmático renal es el ácido paraamino-hipúrico (PAH) o alguno de sus derivados. Como esta sustancia es activamente secretada por los túbulos, la fracción de extracción en humanos varía entre 0,7 y 0,9, siempre que la concentración plasmática de PAH se mantenga en valores por debajo del transporte máximo, entre 10 y 20 mg/l.

En la práctica, la fracción de extracción se supone igual a 1, y la concentración plasmática de PAH se mantiene relativamente constante mediante una infusión continua. De esta manera, la ecuación se reduce a:

$$FPR = OPAH \times FU/APAH$$

o

$$FPR = OPAH \times FU/PPAH$$

ya que la concentración arterial de PAH es prácticamente la misma que en cualquier otro segmento del árbol vascular. En consecuencia, si se recuerda la fórmula del aclaramiento, se puede decir que el flujo plasmático renal puede ser medido, de forma bastante aproximada y no invasiva, mediante la evaluación del aclaramiento de PAH. El cálculo del flujo sanguíneo renal a partir del FPR se hace simplemente corrigiendo por el hematocrito:

$$FSR = FPR/(1-Hto)$$

Esta técnica ha sido muy usada en estudios clínicos y experimentales, a pesar de que, al ser la extracción de PAH inferior a 1, infraestima el verdadero flujo sanguíneo renal. Además, la extracción de PAH es todavía más reducida en pacientes con insuficiencia renal o después de ciertas maniobras que incrementan el flujo sanguíneo renal, de forma que, cuando se necesita una medida más precisa del FSR, hay que medir simultáneamente las concentraciones de PAH en arteria y vena renal, lo que complica mucho la técnica. Además, esta técnica no puede aplicarse cuando no se puede recoger la orina, o cuando la recogida es presumiblemente incorrecta. Por ello se han desarrollado métodos alternativos para medir el flujo sanguíneo renal. Los más importantes son:

a) Medida directa de la dilución de un indicador infundido directamente en la arteria renal.

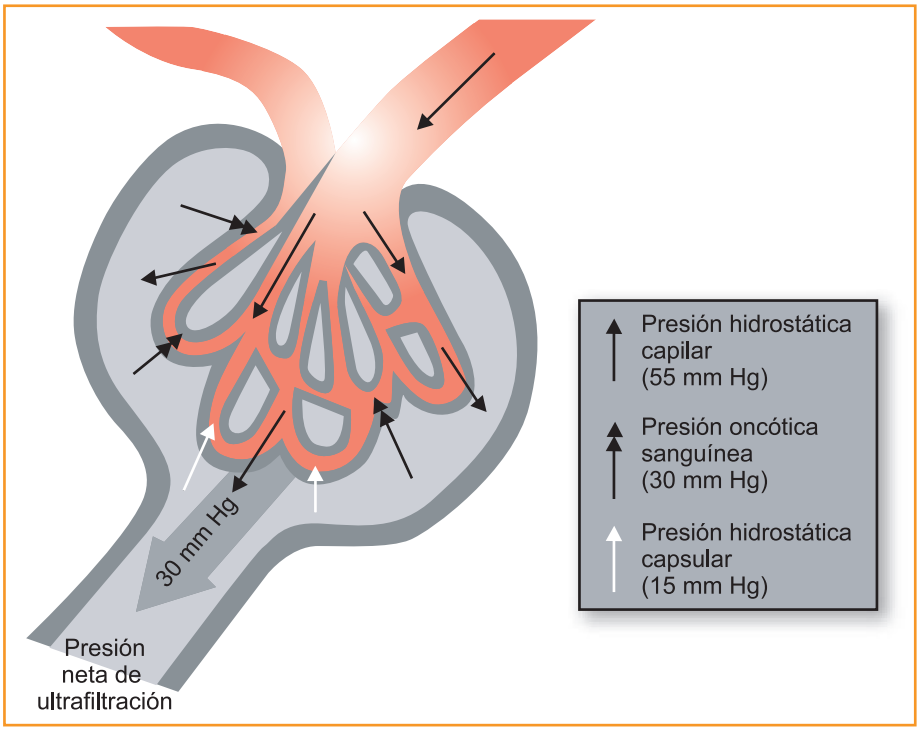


Figura 5. *Fuerzas que actúan en el capilar glomerular durante el proceso de filtración.*

b) Cinética de captación renal, de tiempo de tránsito o de desaparición del riñón de sustancias indicadoras radioactivas monitorizadas selectivamente desde el exterior.

c) Técnicas de imagen cuantitativa: tomografía de emisión de positrones, tomografía computarizada, resonancia magnética nuclear de imagen.

5.3. La filtración glomerular y su regulación

La formación de orina comienza por la filtración de unos 125 ml de plasma por minuto, lo que corresponde, aproximadamente, a un 20% del que pasa por el riñón. Este proceso de formación de ultrafiltrado a través de las membranas capilares glomerulares no necesita gasto local de energía metabólica, sino que la presión necesaria es producida por el sistema cardiovascular. Considerando el capilar glomerular como una membrana porosa, la fuerza mínima que se necesita para filtrar fluido a su través es la que necesita:

a) Para vencer las resistencias de fricción de los poros de la membrana al flujo del filtrado.

b) Separar las proteínas de la fase acuosa.

Esta última fuerza es la presión oncótica del plasma en los capilares glomerulares (πg). La fuerza hidrostática que genera la filtración es igual a la diferencia entre la presión hidrostática de la sangre glomerular (Pg) y la presión de la cápsula de Bowman (Pi). Una cuarta fuerza, teóricamente a tener en cuenta, sería la presión coloidosmótica del espacio de Bowman (πi), pero al estar ésta virtualmente libre de proteínas es prácticamente 0. Así, para un coeficiente de ultrafiltración (Kf) fijo, o lo que es lo mismo para una permeabilidad fija de la membrana de filtración, la tasa de filtración glomerular (FG) es directamente proporcional a la suma algebraica de esas fuerzas, o presión de filtración efectiva (ΔPf) **(Figura 5)**.

$$FG = Kf \times Pf = Kf \times (Pg - Pi - \pi g)$$

De aquí se desprende que la tasa de formación de filtrado glomerular (FG) depende de dos factores:

1. De las características ultraestructurales del elemento ultrafiltrante, es decir, de la permeabilidad y superficie de la membrana glomerular, simbolizada por Kf.

2. De la hemodinámica del suministro de sangre a la nefrona, simbolizada por ΔPf.

Sin embargo, tanto la Pg como la πg no son dos constantes, si no que van variando desde la arteriola aferente a la arteriola eferente. Así, mientras que la Pg va disminuyendo ligeramente debido al rozamiento de la sangre con las paredes del capilar y a la disminución del volumen contenido en los mismos, la πg va aumentando progresivamente a lo largo del capilar, ya que, al filtrarse solamente agua y cristaloides pero no proteínas, éstas van concentrándose y, por lo tanto, aumenta la πg. De

hecho, hay un punto del capilar glomerular en el que Pg - Pi = πg, por lo que la fuerza neta de ultrafiltración es 0, y la sangre discurre a través del capilar restante sin que haya más filtración. A este fenómeno se le llama equilibrio de ultrafiltración. La importancia fisiológica de ese fenómeno radica en que, si se modifica el flujo sanguíneo renal sin modificar el resto de los determinantes de la filtración glomerular, la tasa de aumento de πg también se modifica y, por lo tanto, se modifica la filtración glomerular en el mismo sentido en que lo hacen los cambios en el flujo plasmático renal.

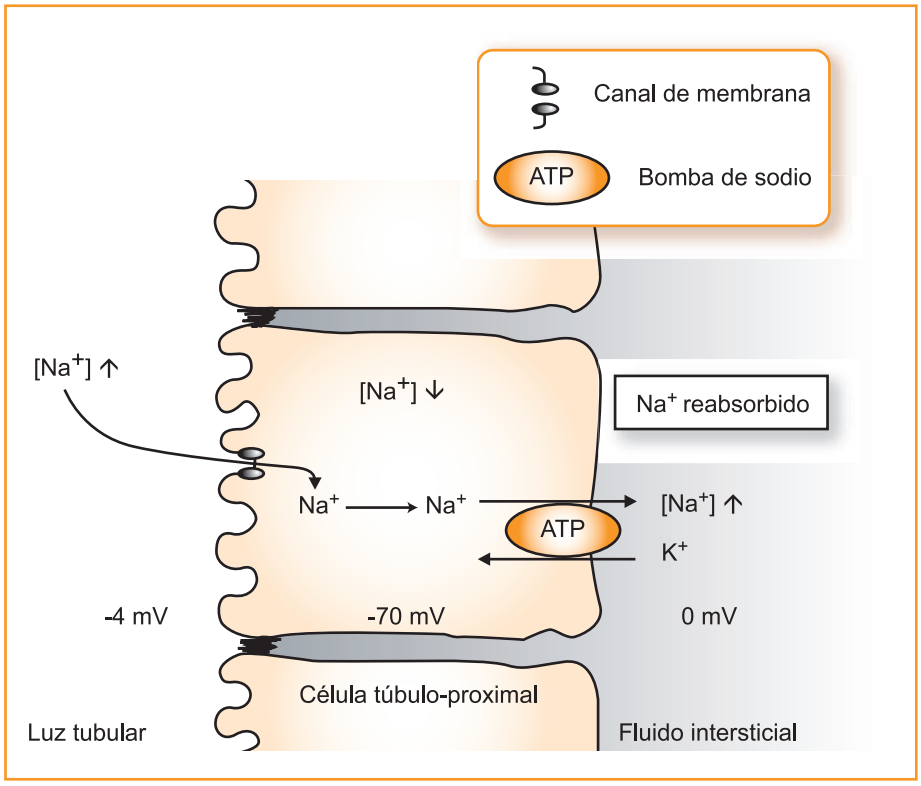


Figura 6. *Mecanismos de reabsorción de sodio en el túbulo proximal.*

La estructura de la barrera de filtración glomerular determina la composición del filtrado glomerular, ya que ejerce una restricción al paso de solutos a su través, en función de su tamaño y de su carga eléctrica. Con independencia de su carga, las moléculas con un radio inferior a 18 angströms (Å) son libremente filtradas, mientras que aquellas con radio molecular superior a 45 Å no se filtran en absoluto.

Dentro de este rango de tamaños, para un determinado radio molecular, las moléculas catiónicas se filtran más fácilmente que las aniónicas. Este hecho se explica por la presencia de glicoproteínas cargadas negativamente en la superficie de todos los componentes de la barrera de ultrafiltración, y la consiguiente interacción electrostática con las moléculas aniónicas. La repercusión fisiológica de este hecho es que, debido a que la mayor parte de proteínas plasmáticas están cargadas negativamente, su filtración está muy restringida.

Ya anteriormente se ha explicado que, frente a cambios en la presión de perfusión renal, el flujo sanguíneo renal se mantiene constante, fundamentalmente por adaptación de la resistencia arteriolar aferente. Esto permite mantener constante la presión capilar intraglomerular y, por lo tanto, la tasa de filtración glomerular (TFG). Por lo tanto, los mecanismos detallados para explicar la autorregulación del FSR son también aplicables a la autorregulación de la TFG.

5.3.1. Medida del filtrado glomerular

La medida más precisa de la tasa de filtración glomerular (TFG) se realiza aplicando la teoría del aclaramiento renal previamente descrita (*ver apartado 5.2.3*), utilizando como indicador una sustancia que se filtre libremente en el glomérulo, pero que no sea secretada ni reabsorbida por el riñón, de forma que la cantidad neta que se filtre en el glomérulo aparezca íntegra en la orina. La sustancia que mejor cumple estas condiciones es la inulina, un polisacárido de origen vegetal. Esta sustancia tiene que ser inyectada en la circulación y, si se quiere mantener unos niveles constantes, ser continuamente infundida. Ante esta complicación, para medir la FG se utiliza más frecuentemente en la clínica el aclaramiento de una sustancia endógena,

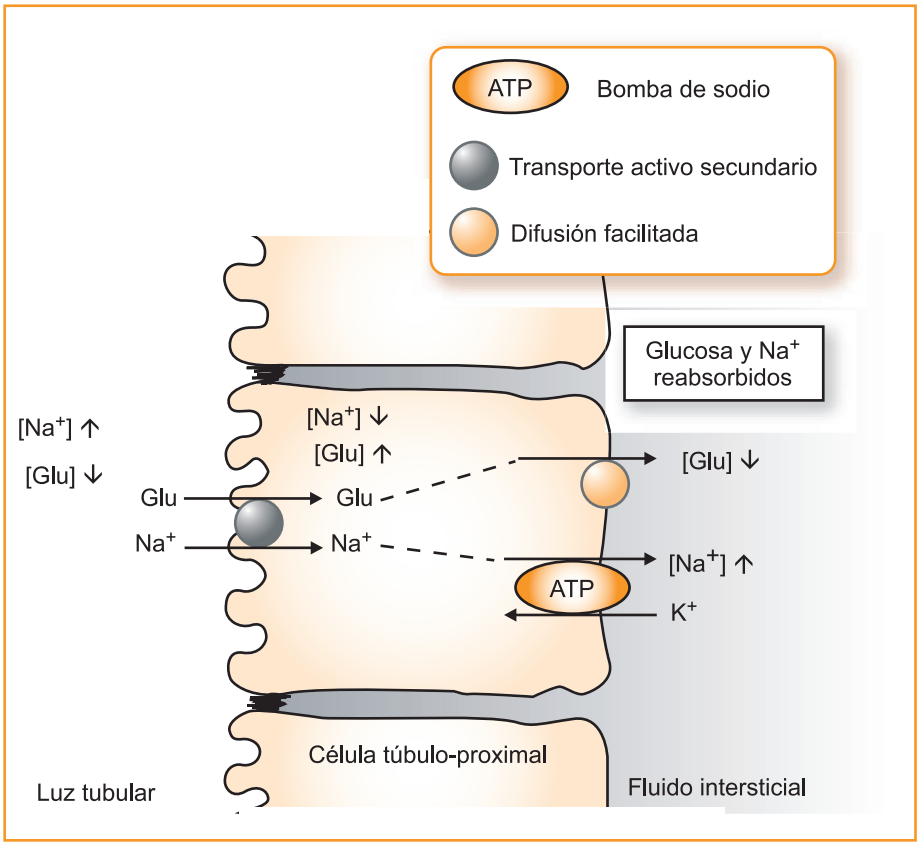


Figura 7. *Mecanismos de reabsorción de glucosa y otras moléculas orgánicas por cotransporte con sodio en el túbulo proximal.*

la creatinina, que es continuamente producida por el metabolismo del músculo esquelético y cuyos niveles se mantienen relativamente constantes en intervalos cortos de tiempo. Aunque la creatinina no cumple exactamente los criterios anteriormente expuestos, el valor de su aclaramiento renal se aproxima bastante al de la TFG. Además, como su eliminación es casi exclusivamente renal, un aumento de los niveles plasmáticos de creatinina en plasma indica con gran probabilidad una disminución de la TFG.

5.4. Mecanismos de transporte a lo largo de la nefrona

En los próximos apartados se revisan los mecanismos implicados en el manejo tubular de los componentes más importantes del líquido extracelular en las diferentes partes de la nefrona, así como su regulación.

5.4.1. Túbulo proximal

En el túbulo proximal se reabsorben aproximadamente las dos terceras partes del agua, el cloruro y el sodio, así como la práctica totalidad del bicarbonato, azúcares, aminoácidos y péptidos filtrados. La resorción es isoosmótica, o sea, el líquido que abandona el túbulo proximal tiene una osmolaridad similar a la del plasma.

La reabsorción en el túbulo proximal está basada fundamentalmente en la existencia, exclusivamente en la región basolateral de su membrana plasmática, de la enzima Na^+,K^+-ATPasa. Esta enzima, que precisa energía para su activación, saca sodio desde el espacio intracelular hacia el intersticio peritubular, intercambiándolo con potasio. En consecuencia, la concentración intracelular de sodio disminuye y la célula se hiperpolariza, cargándose negativamente con respecto al exterior. Se genera así un gradiente electroquímico para el sodio entre la luz tubular y el compartimento intracelular, permitiendo la entrada de Na^+ por el borde en cepillo a través de sistemas de canales de sodio **(Figura 6)**. El sodio también entra a la célula mediante sistemas de cotransporte o de contratransporte. En el primer caso, el sodio, acompañado por glucosa u otros monosacáridos, aminoácidos, ácidos orgánicos, fósfato, etc., pasa desde la luz tubular al compartimento intracelular **(Figura 7)**. En el segundo caso, la entrada de sodio al interior de la célula se acompaña de la salida, utilizando el mismo transportador, de hidrogeniones desde la célula a la luz del túbulo. Esta salida de hidrogeniones hace que la concentración de HCO_3- en el túbulo proximal disminuya, al reaccionar ambos iones, dando lugar a CO_2 y H_2O, en

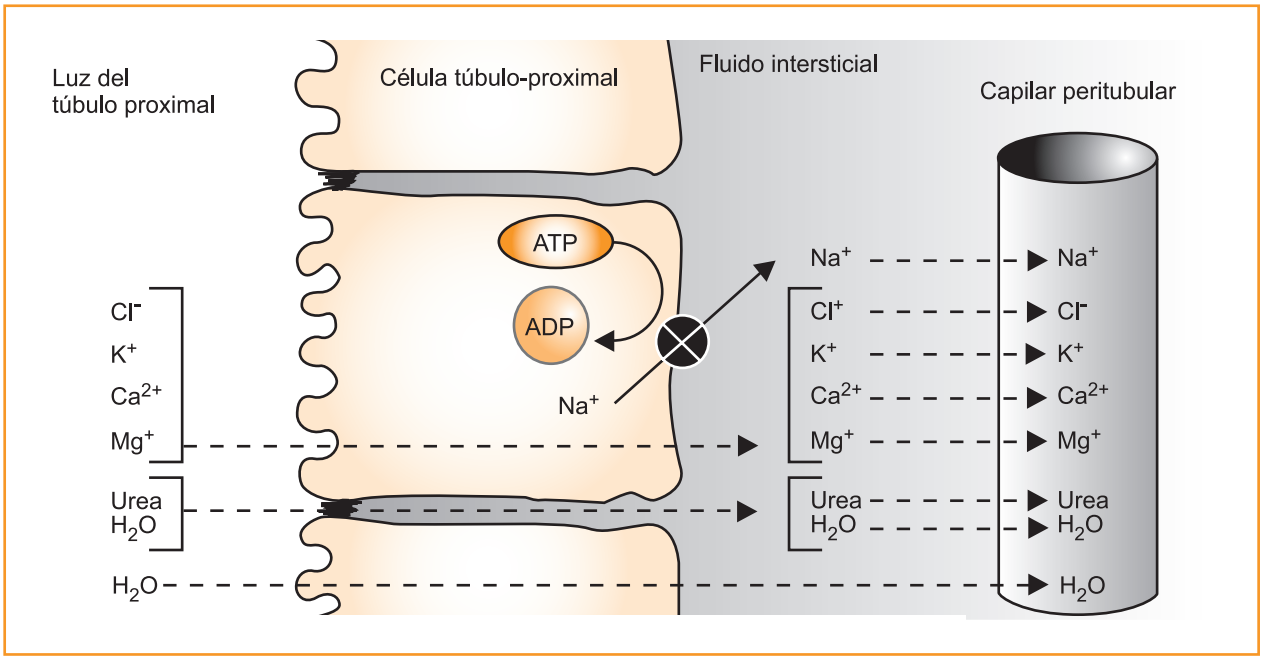


Figura 8. *Transporte transcelular y paracelular de agua, urea e iones en el túbulo proximal.*

una reacción catalizada por la anhidrasa carbónica del borde en cepillo tubular.

El transporte de sodio genera un potencial negativo en el interior de la luz tubular con respecto al intersticio peritubular (potencial transepitelial) de -4 a -5 mV, debido al hecho de que estos cotransportadores transportan cargas netas positivas al espacio intersticial. Los otros transportadores, como, por ejemplo, el contratransportador Na^+ x H^+ o los cotransportadores Na^+ - ácidos orgánicos son electroneutros, y por consiguiente no contribuyen a la diferencia de potencial transepitelial. También se reabsorben en el túbulo proximal otros iones como cloruro, magnesio o calcio **(Figura 8)**.

A lo largo de todo el túbulo proximal, el paso de solutos de la vertiente luminal a la basolateral se acompaña de H_2O, que sigue por ósmosis el mismo camino. Este transporte de agua puede realizarse por vía paracelular o transcelular **(Figura 8)**; en el segundo de los casos, es transportada por una proteína de membrana conocida con el nombre de acuaporina 1. La urea también se reabsorbe en este segmento, probablemente por vía paracelular. Una vez en el intersticio, el fluido reabsorbido pasa a los capilares peritubulares, siguiendo las leyes del intercambio capilar de Starling **(Figura 8)**. El contenido capilar a este nivel tiene una baja presión hidrostática (por estar precedido por la arteriola eferente, que es un vaso de resistencia) y una elevada presión oncótica (por haberse producido el filtrado glomerular). El intersticio tiene una presión hidrostática elevada debida a la acumulación activa iónica transepitelial. La resultante de estas fuerzas es una reabsorción capilar neta. El bombeo activo transepitelial es importante y, sin él, la presión oncótica capilar no es suficiente como para impulsar la reabsorción proximal.

En el conjunto del túbulo proximal se reabsorben aproximadamente dos terceras partes del Na^+ y del agua filtrados, excepto que haya cambios en el volumen extracelular, que hacen que este porcentaje se modifique, como se explicará más adelante cuando se hable de la regulación del balance de sodio. Esta constancia de la proporción del sodio reabsorbido, aun en presencia de cambios de la carga filtrada, se denomina **equilibrio glomérulo-tubular**. Aunque son varios los mecanismos que explican este equilibrio, probablemente el más importante cuantitativamente es el hecho de que la mayor parte de los pequeños cambios producidos en la filtración glomerular ocurren sin cambios en el flujo sanguíneo renal y, por lo tanto, con cambios en la fracción de filtración. Un aumento de la tasa de filtración glomerular, por lo tanto, conllevaría

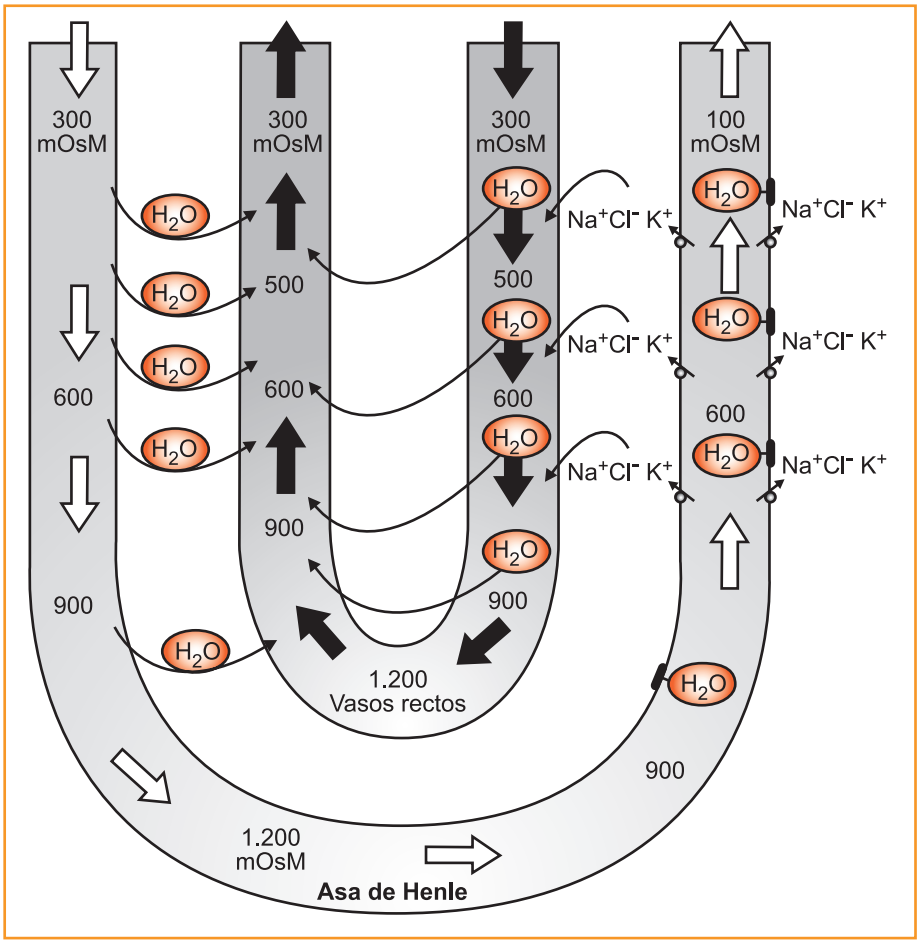


Figura 9. *Mecanismos de transporte que ocurren en el asa de Henle.*

una mayor fracción de líquido ultrafiltrado, y consiguientemente, la concentración de proteínas en el plasma de la sangre eferente sería mayor. También lo sería la presión coloidosmótica (oncótica) de ese plasma, que, al circular por los capilares peritubulares, tendría una mayor capacidad de absorción de agua desde el intersticio, siguiendo la ley de Starling y, por lo tanto, aumentaría la resorción neta de agua y solutos, manteniéndose el equilibrio entre filtración y reabsorción. La importancia fisiológica de este fenómeno es evidente, si se tiene en cuenta que un aumento del 1% en la carga filtrada conlleva un aumento en la filtración de 225 mEq de Na^+, que, si no fueran reabsorbidos en su mayoría, generarían un balance negativo de más de un litro de volumen extracelular.

El túbulo proximal reabsorbe aproximadamente 2/3 de la carga filtrada de potasio (aprox. 700 mmol/día) mediante el proceso de resorción isosmótica ya descrito. El asa de Henle reabsorbe otro 20% de la carga filtrada. El hecho de la resorción de K^+ sea menor que la de sodio, a pesar de que ambos son transportados al interior de la célula por el mismo transportador en las mismas proporciones, se debe a que, una parte del K^+ vuelve al interior de la luz tubular a través de los canales de K^+ apicales, como se ha descrito previamente.

5.4.2. Asa de Henle

En el asa de Henle, la reabsorción de Na^+ es siempre una fracción fija (aprox. el 25%) de la carga filtrada. Actúa como un sistema de amortiguación a fin de reducir la carga filtrada que escapa del túbulo proximal a unas dimensiones manejables por los túbulos distal y colector. El asa de Henle comprende tres segmentos funcionalmente diferentes: rama descendente delgada, rama ascendente delgada y rama ascendente gruesa. La actividad Na,K-ATPasa, es decir, la existencia de transporte activo de ClNa en la **rama descendente** del asa de Henle es indetectable o mínima. A su vez, esta porción de la nefrona es prácticamente impermeable al ClNa y muy permeable al agua, debido, entre otras razones, a la presencia en sus células de acuaporina-1. Además, y como se detallará más adelante, su permeabilidad a la urea es baja, lo que tiene gran importancia en el mecanismo de concentración y dilución urinarias. Como consecuencia de todo ello, al ir pasando el fluido por este segmento de la nefrona e ir aumentando la concentración de solutos en el intersticio medular, el agua va saliendo pasivamente del túbulo, y cierta cantidad de solutos, sobre todo urea, penetra al interior de la luz tubular, aumentando la osmolaridad del fluido

tubular de forma paralela a como lo hace la osmolaridad intersticial **(Figura 9)**.

En la **rama ascendente delgada**, persiste la ausencia de transporte activo de sodio, pero el epitelio tubular es más permeable al ClNa y es completamente impermeable al agua. Las bases moleculares de estas permeabilidades características no se conocen con precisión, pero no se han detectado cantidades apreciables de transportadores de agua (acuaporinas) en este segmento de la nefrona, y la conductancia transepitelial al cloro es muy elevada a ese nivel. Con respecto a la urea, la permeabilidad de ese segmento es elevada, aunque cuantitativamente menor que la de ClNa. Como el fluido tubular es rico en Na^+ y pobre en urea, mientras que el intersticio contiene cantidades similares de ambos, hay una difusión pasiva de ClNa al exterior de la nefrona y de urea al interior de la misma. Esto, junto con la impermeabilidad del segmento al agua, determina que el líquido que fluye por el asa ascendente delgada se vaya haciendo progresivamente menos hipertónico. Estos fenómenos de intercambio en los segmentos estrechos del asa de Henle sólo tienen importancia cuantitativa en las nefronas yuxtamedulares, con glomérulos mayores y asas de Henle que penetran profundamente en el parénquima renal, hasta llegar cerca de la papila. Dado que en estas porciones del riñón la concentración de urea intersticial es muy elevada, estas nefronas yuxtamedulares reabsorben más ClNa que las asas de Henle de la médula externa. La diferencia entre ambas, y la posibilidad de dirigir el flujo hacia unas u otras, es importante en la homeostasis renal del Na^+ y en la regulación del volumen extracelular **(Figura 9)**.

La parte gruesa de la rama ascendente del asa de Henle es impermeable al agua y existe un transportador en el borde en cepillo de la célula que transporta Na^+, K^+ y Cl^- a su interior, acoplado a la bomba de sodio presente en el espacio basolateral. El sodio es expulsado de la célula al espacio intersticial basolateral por la bomba de sodio, mientras el Cl^- y el K^+ difunden a través de transportadores específicos de la membrana basolateral, siguiendo sus respectivos gradientes de concentración. El resultado final es que Cl^-, Na^+ y K^+ pasan de la luz tubular al espacio intersticial basolateral y, de ahí, de una forma similar a lo que ocurre en el túbulo proximal, a los capilares peritubulares. Sin embargo, una parte del K^+ abandona la célula por el borde en cepillo, volviendo a la luz tubular. Esto hace que el cotransportador sea electrogénico, y que genere un potencial transepitelial positivo en la luz tubular. La rama ascendente gruesa es el sitio de acción de la familia de diuréticos más potentes, los diuréticos del asa (furosemida, bumetanida, ácido etacrínico) que inactivan el cotransportador Na^+ - K^+ - $2Cl^-$ **(Figura 10)**.

La resorción de solutos, en ausencia de resorción de agua, hace que el líquido que sale del asa ascendente gruesa sea hipotónico, por lo cual se llama a esta parte de la nefrona "segmento dilutor" **(Figura 9)**. La cantidad de ClNa resorbida en este segmento depende de la cantidad que llega a él; por lo tanto, cuanto más llega, más se reabsorbe. Esta propiedad explica el hecho de que al inhibir la resorción de sodio en el túbulo proximal se genera un incremento en la excreción urinaria de sodio menor de lo esperado, debido a que una parte sustancial del aumento de carga es reabsorbida por el asa de Henle.

5.4.3. Túbulo distal

Funcionalmente, el túbulo distal tiene dos partes bien diferenciadas, la porción inicial, verdadero túbulo distal, y la porción final o **túbulo conector**, funcionalmente similar al túbulo colector, por lo que se describirá su función junto con la de éste. La porción inicial del túbulo distal resorbe una fracción relativamente constante (5%) de la carga filtrada: si aumenta la carga aumenta la reabsorción; si disminuye la primera lo hace también la segunda. La reabsorción de Na^+ en el túbulo distal obedece al mismo esquema general visto en segmentos anteriores: un transporte activo basolateral llevado a cabo por la Na^+,K^+-ATPasa y distintos transportadores apicales de Na^+ que permiten el transporte facilitado de Na^+ desde la luz al interior de la célula. Entre ellos, destaca un contratransportador Na-Ca, que es la diana molecular de las tiazidas.

Del mismo modo que la rama ascendente gruesa del asa de Henle, la parte inicial del túbulo distal es completamente impermeable al agua. Por lo tanto, al resorber solutos dejando el agua en la luz tubular, hace que la osmolaridad del fluido tubular, ya muy baja (isosmótica) al abandonar el asa de Henle, disminuya todavía más, haciéndose hipoosmótica con respecto al plasma y al intersticio cortical por el que esta porción del túbulo discurre. Por esta razón, a esta porción del túbulo se le llama **segmento dilutor cortical**.

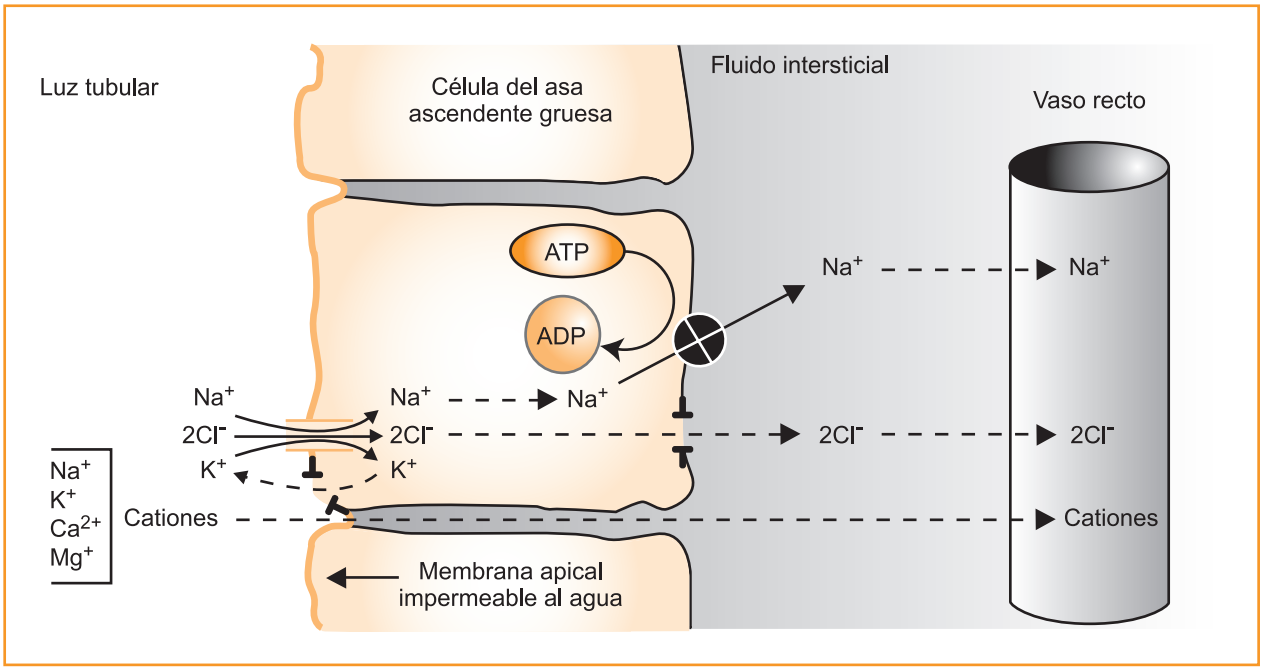


Figura 10. *Reabsorción tubular de Na, Cl y K en el asa de Henle ascendente gruesa.*

5.4.4. Túbulo conector y túbulo colector

Este segmento de la nefrona reabsorbe una parte muy pequeña de la carga filtrada, inferior al 3%. Sin embargo, es la parte más importante a la hora de ajustar la excreción renal de agua, Na^+, K^+ y H^+ al estado de llenado del volumen extracelular y a su composición. Esto se debe a que en este segmento tanto los transportadores apicales como los basolaterales presentan la notable peculiaridad de ser regulados por la aldosterona y la hormona antidiurética (ADH) a nivel transcripcional y postranscripcional, lo que permite un ajuste exquisito y una dependencia casi absoluta de la función de este segmento del estado del volumen extracelular del organismo.

Cuando el Na^+ abandona el túbulo distal y llega al segmento conector y túbulo colector cortical, el gradiente electroquímico de la Na^+,K^+-ATPasa arrastra Na^+ al interior de la célula a través de unos canales para el Na^+ existentes en la membrana apical de las células epiteliales. Dado que la permeabilidad de la membrana a los aniones acompañantes es menor, este movimiento de Na^+ genera una diferencia de potencial negativa en la luz del túbulo, que provoca la salida de K^+ a través del canal de K^+ apical, y favorece el bombeo activo de H^+ a la luz del túbulo por la bomba de H^+ **(Figura 11)**. Los tres procesos son activados por la aldosterona, como más tarde se comentará.

5.5. Regulación de la reabsorción tubular

5.5.1. Aldosterona

La liberación de aldosterona por la zona glomerulosa de la corteza suprarrenal es estimulada por la angiotensina II y por la elevación del K^+ plasmático así como, de modo menos específico, por la hormona adrenocorticotropa (ACTH) **(Figura 12)**. En el riñón, existen receptores para la aldosterona en el túbulo conector y el túbulo colector. La aldosterona aumenta la transcripción y traducción de las subunidades de la Na^+,K^+-ATPasa y del canal de Na^+, incrementa el número de unidades insertadas en la membrana y aumenta su probabilidad de apertura al favorecer la externalización **(Figura 13)**.

La aldosterona también activa la transcripción y traducción de la H^+-ATPasa, una bomba de H^+ similar a la del estómago, implicada en la secreción tubular de hidrogeniones, y, por lo tanto, en la aci-

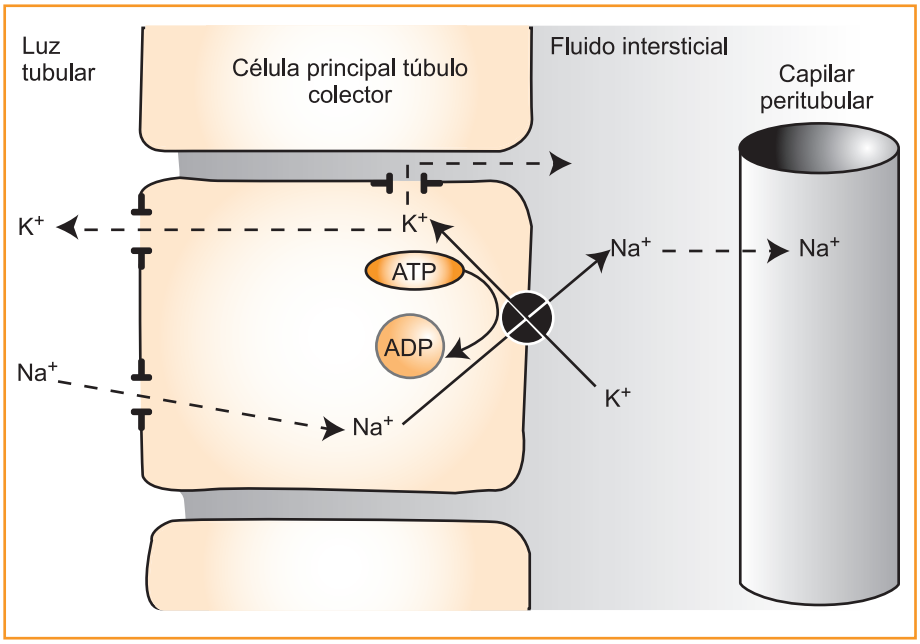


Figura 11. *Mecanismos de reabsorción de sodio y secreción de potasio en el túbulo colector.*

dificación de la orina, el atrapamiento intraluminal del NH_3 en forma de NH_4^+ y la generación de la acidez titulable. La aldosterona también activa el canal apical para K^+.

Por todo ello, el resultado de la acción de la aldosterona es un aumento de la resorción de Na^+ y un aumento de la secreción de potasio e hidrogeniones. La acción rápida de la aldosterona se explica por su efecto sobre externalización de las unidades preformadas del canal apical de Na^+ y sobre la activación del canal apical de K. La acción lenta, pero más potente y mantenida, se explica por su efecto sobre la síntesis de nuevas subunidades de la Na^+,K^+-ATPasa y del canal apical de sodio **(Figura 13)**.

5.5.2. La hormona antidiurética

La permeabilidad al agua del túbulo conector y del túbulo colector es regulada por la **ADH**, una hormona de origen hipotalámico secretada por el lóbulo posterior de la hipófisis en respuesta a los cambios en la osmolaridad y, secundariamente, en el volumen del líquido extracelular y en la presión arterial **(Figura 14)**. El líquido tubular que alcanza el túbulo conector y el túbulo colector son hipotónicos, debido a que durante su paso por el asa ascendente estrecha, asa de Henle ascendente gruesa y túbulo distal se le han ido restando solutos (fundamentalmente, ClNa) pero no agua **(Figura 15)**. La permeabilidad al agua del túbulo colector es proporcional a los niveles circulantes de ADH. Por ello, en presencia de ADH, una parte muy importante del agua que circula por los túbulos conectores y colectores abandona los mismos a favor de un gradiente de concentración. En el túbulo conector y túbulo colector cortical se produce cuantitativamente la mayor salida de agua, aunque el gradiente osmótico es pequeño (el intersticio medular es solamente isosmótico). En el túbulo colector medular y papilar la osmolaridad del intersticio se va haciendo progresivamente mayor, al ir avanzando este segmento de la nefrona hacia la papila, lo que determina una resorción adicional de agua, hasta alcanzar una osmolaridad máxima de 1.200 mOsm/l (mOsM) **(Figura 16, panel izquierdo)**. En ausencia de ADH o de sus receptores funcionales (diabetes insípida), el túbulo conector y el túbulo colector cortical y medular son impermeables al agua, por lo que casi toda el agua que sale del túbulo distal es eliminada por la orina, produciéndose entonces una gran cantidad de orina muy diluida **(Figura 16, panel derecho)**. El túbulo colector papilar, a diferencia del resto del túbulo colector, es permeable al H_2O y a la urea aún en ausencia de ADH. De hecho, este segmento es crítico en el aporte de urea a la papila, mecanismo necesario para optimizar el fenómeno de contracorriente en el asa de Henle.

El mecanismo por el cual la ADH aumenta la permeabilidad tubular al agua se debe a la existencia de una proteína, la **acuaporina 2**, que se expresa exclusivamente a nivel del túbulo colector medular. La funcionalidad de la acuaporina 2 es es-

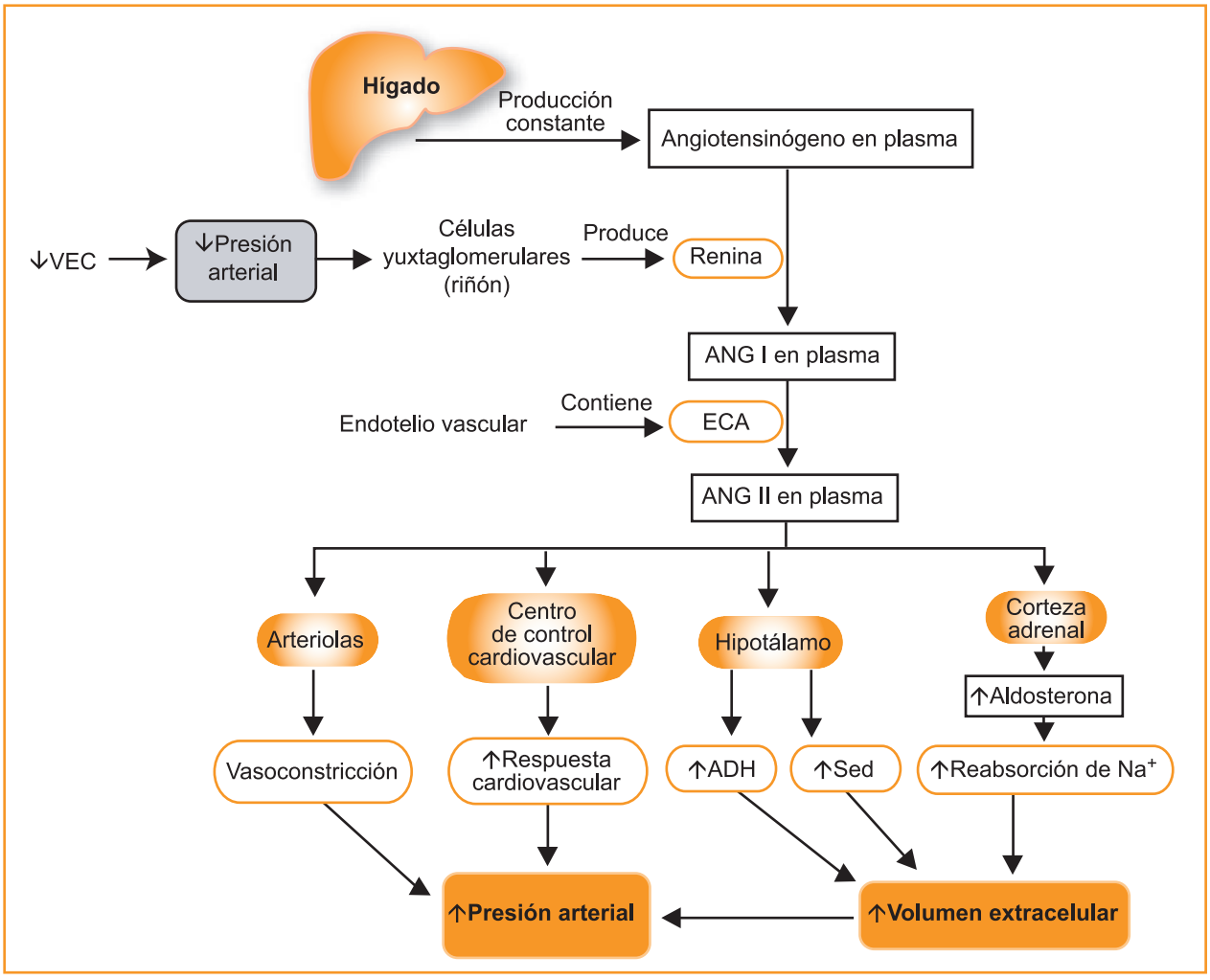


Figura 12. *Regulación por parte del sistema renina-angiotensina-aldosterona del volumen extracelular y de la presión arterial. ADH: hormona antidiurética; ANG: angiotensina; ECA: enzima convertidora de la angiotensina; VEC: volumen extracelular.*

timulada por la unión de ADH a sus receptores V_2, con elevación de AMPc, activación de fosfokinasa A (PKA) y fosforilación de un residuo de serina de la proteína, que modifica su interacción con la actina del citoesqueleto y permite su inserción en la membrana procedente de un compartimento de vesículas subapicales, lo que conlleva el aumento de la permeabilidad de la membrana al agua. La ADH es la única hormona que eleva el AMPc en el túbulo colector medular **(Figura 17)**. La ADH también estimula la apertura de UT 2, un **transportador de urea** de alta capacidad, de gran relevancia en el proceso de concentración de la orina.

De esta forma, el aumento de la osmolaridad urinaria, la disminución del volumen extracelular o la disminución de la presión arterial inducen la liberación hipofisaria de ADH, lo que va a conllevar un aumento de la resorción tubular de agua que es devuelta, libre de solutos, a la circulación, lo que permite restaurar la osmolaridad extracelular, y contribuye a aumentar el volumen extracelular y, por lo tanto, a devolver a la normalidad la presión arterial. Este mecanismo se esquematiza en la **Figura 14**.

5.5.3. Péptido natriurético auricular

Ante un aumento de la cantidad de sodio del organismo, del volumen extracelular o del volumen

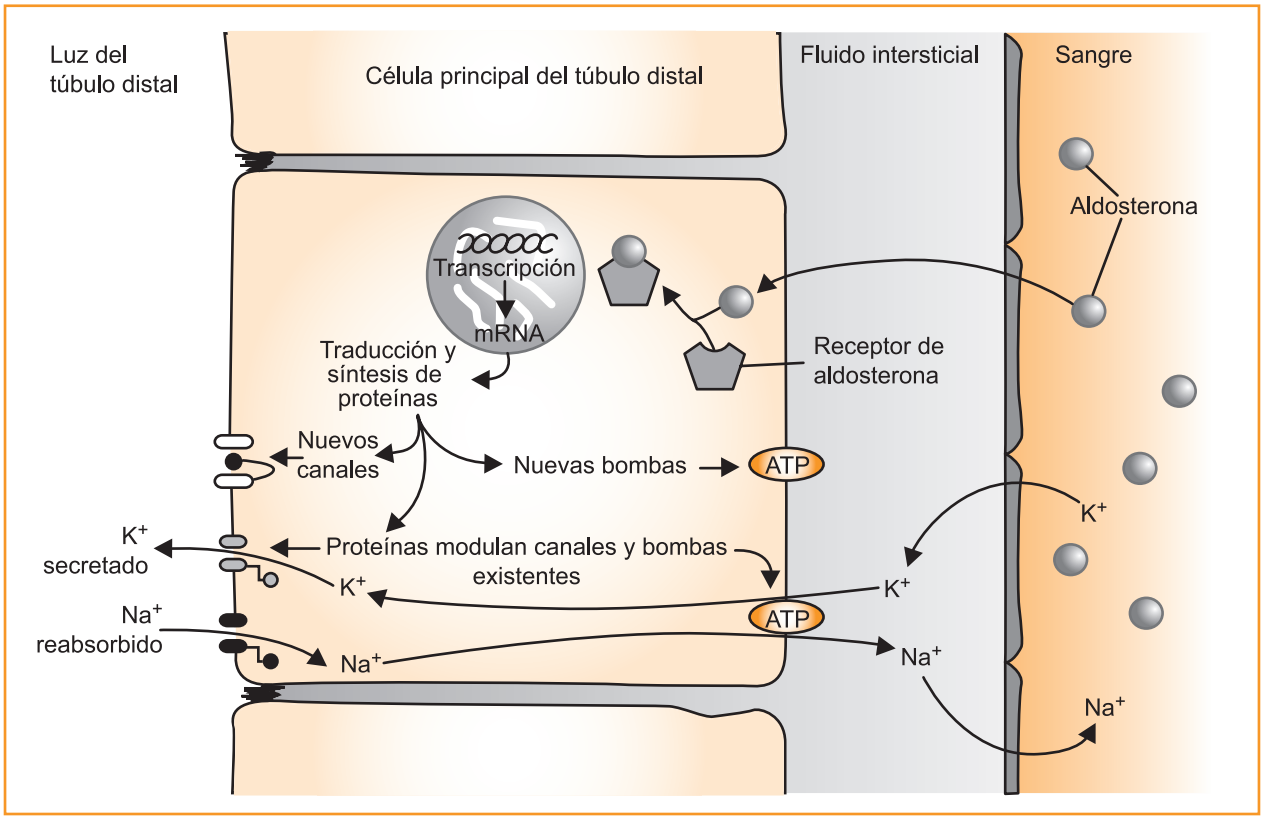


Figura 13. *Mecanismos celulares de acción de la aldosterona.*

plasmático, se produce una distensión de la aurícula, lo que hace que los miocardiocitos auriculares liberen un péptido conocido como péptido natriurético auricular (PNA) **(Figura 18)**. Este péptido tiene acción a muchos niveles del organismo: actúa sobre el hipotálamo inhibiendo la liberación de ADH, sobre las arteriolas produciendo vasodilatación, especialmente en las arteriolas glomerulares renales, por lo que aumenta el filtrado glomerular. También actúa sobre la corteza suprarrenal inhibiendo la liberación de aldosterona. Todo ello hace que, además de disminuir la presión arterial, el PNA aumente la excreción renal de agua y electrólitos, colaborando a devolver el volumen extracelular a sus niveles basales **(Figura 18)**.

6. Balance de sodio

De todas las funciones del riñón, probablemente la más importante es el mantenimiento del balance de sodio. El sodio es el principal catión del líquido extracelular, siendo fundamental en la regulación de la homeostasis del medio interno. Pero, además, dado que se localiza principalmente fuera de las células, los cambios en el contenido corporal de sodio se reflejan en cambios en el volumen del líquido extracelular, que a su vez determina el volumen sanguíneo, el gasto cardiaco y la presión arterial, como se esquematiza en la **Figura 19**. Por tanto, los mecanismos renales que participan en el control de la resorción del Na^+ tienen una importancia decisiva para controlar el volumen del líquido extracelular (LEC), el volumen sanguíneo y la presión arterial **(Figura 19)**. Asimismo, existe una relación estrecha entre la presión arterial y la excreción de Na^+ (relación presión-natriuresis), de forma que al aumentar la presión arterial aumenta la natriuresis y viceversa **(Figura 20)**. De esta forma, el riñón controla la presión arterial mediante el control del volumen del LEC.

Los cambios en la ingesta de sodio y en el volumen del líquido extracelular son detectados por una serie de receptores de volumen y composición del mismo, entre los que destacan:

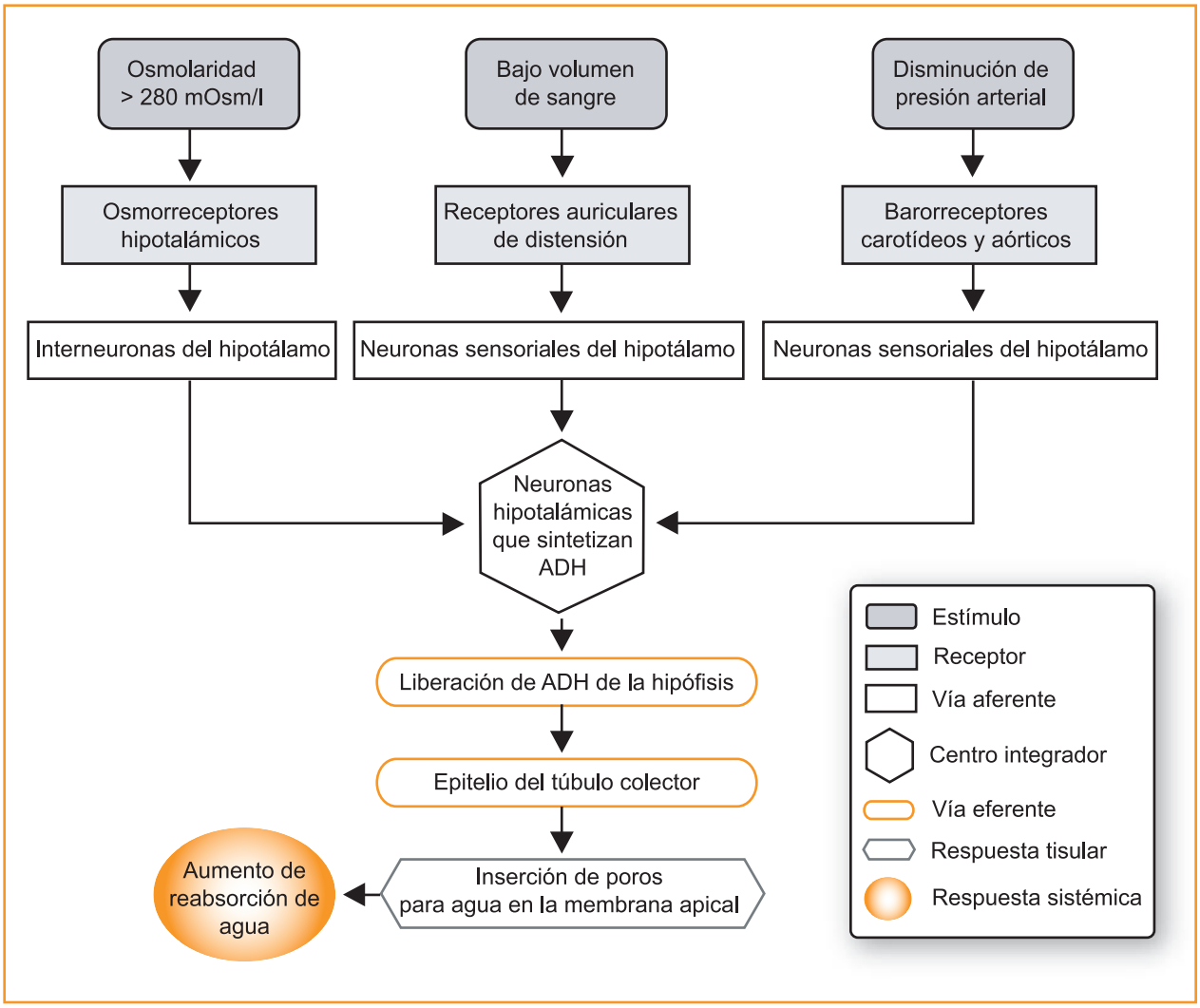


Figura 14. *Mecanismos de regulación de la liberación de hormona antidiurética (ADH) y efectos fisiológicos.*

a) Receptores de distensión presentes en la aurícula y en las arterias pulmonares. Evalúan el grado de llenado vascular y, por lo tanto, el volumen extracelular.

b) Barorreceptores arteriales (situados en el arco aórtico y en el seno carotídeo). Evalúan la presión arterial, la cual, como ya se dijo anteriormente, está directamente relacionada con el volumen circulante.

c) Receptores intracraneales: evalúan el volumen intracelular.

d) Receptores hepático/portales: evalúan la ingesta de sodio antes de que llegue al torrente circulatorio.

Cuando el volumen del LEC y/ o la presión arterial disminuye, se produce una activación de la actividad simpática renal, lo que produce vasoconstricción y aumento de la liberación de renina por parte de las células del aparato yustaglomerular. También puede producirse renina por un efecto directo de activación de la mácula densa por un aumento de la producción de NO **(Figura 20)**. La renina produce angiotensina II con efecto directo sobre las arteriolas vasculares, produciendo vasoconstricción y sobre el centro de control cardiovascular, desencadenando cardioaceleración, lo que tiende a aumentar la presión arterial **(Figura 21)**. La angiotensina II también actúa sobre diversas neuronas hipotalámicas favoreciendo la liberación de ADH y la producción de sed, lo que está relacionado con el balance de agua que se ha analizado previamente. La angiotensina II tiene

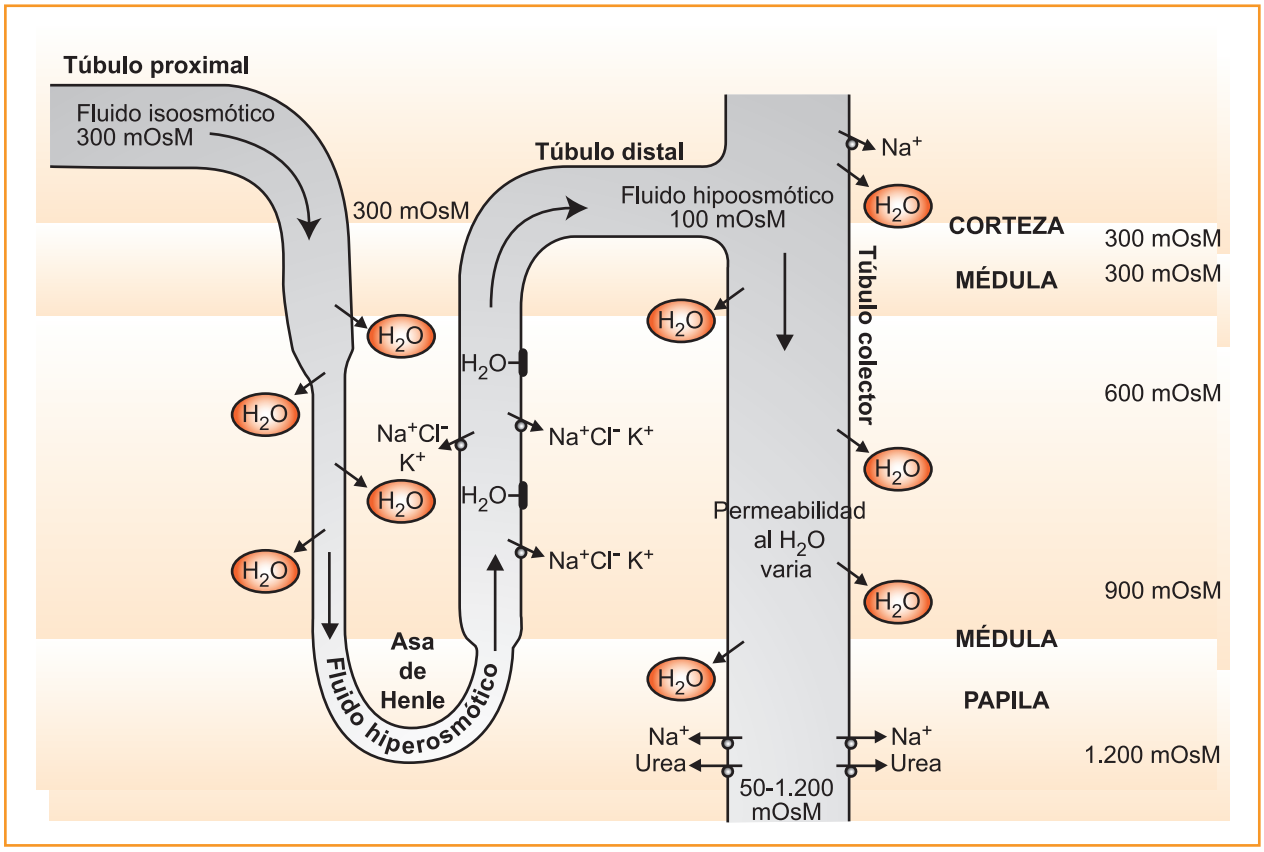


Figura 15. *Reabsorción tubular de agua y solutos a lo largo de la nefrona en condiciones de antidiuresis.*

también efectos directos sobre el túbulo proximal, aumentando la resorción tubular de sodio y agua. Estos cambios en la reabsorción proximal no son, sin embargo, los responsables fundamentales del aumento o disminución de la eliminación renal de sodio, ya que tanto el asa de Henle como la parte inicial del túbulo distal reabsorben una fracción fija de la carga de Na^+ que les llega (25% y 5%, respectivamente), de forma que estos segmentos tamponan parcialmente los cambios producidos en la carga filtrada, y hacen que a la parte final de la nefrona llegue una cantidad de Na^+ relativamente constante, con independencia de los cambios en el VEC.

La angiotensina II también tiene efecto sobre la corteza suprarrenal, ya que hace que se libere aldosterona de la zona glomerulosa de la mencionada corteza suprarrenal. La aldosterona actúa sobre el túbulo colector, haciendo que aumente la resorción tubular de sodio tal y como se ha explicado más arriba (*ver apartado 5.5.1*), por lo que aumenta el contenido de sodio en el organismo y, por lo tanto, el volumen extracelular **(Figura 21)**.

Cuando el volumen extracelular o la presión arterial disminuyen, estos cambios son sentidos por los receptores de volumen (distensión) auriculares y por los barorreceptores del arco aórtico y seno carotídeo, que mediante reflejos homeostáticos mediados por activación del sistema nervioso simpático y de sistemas hormonales como el sistema renina-angiotensina-aldosterona o la hormona antidiurética inducen sobre el sistema cardiovascular un aumento del gasto cardiaco y vasoconstricción. La acción de estos sistemas sobre el riñón induce un aumento de la resorción tubular de agua y sodio como previamente se ha descrito, que, junto con el estímulo de la sed y la ingestión oral de agua, hacen que aumente el volumen intra y extracelular y se recupere la presión arterial **(Figura 21)**.

Cuando lo que ocurre es un aumento del volumen extracelular o de la presión arterial, los mismos mecanismos actúan en sentido contrario, haciendo que disminuya el volumen extracelular y la presión arterial **(Figura 22)**.

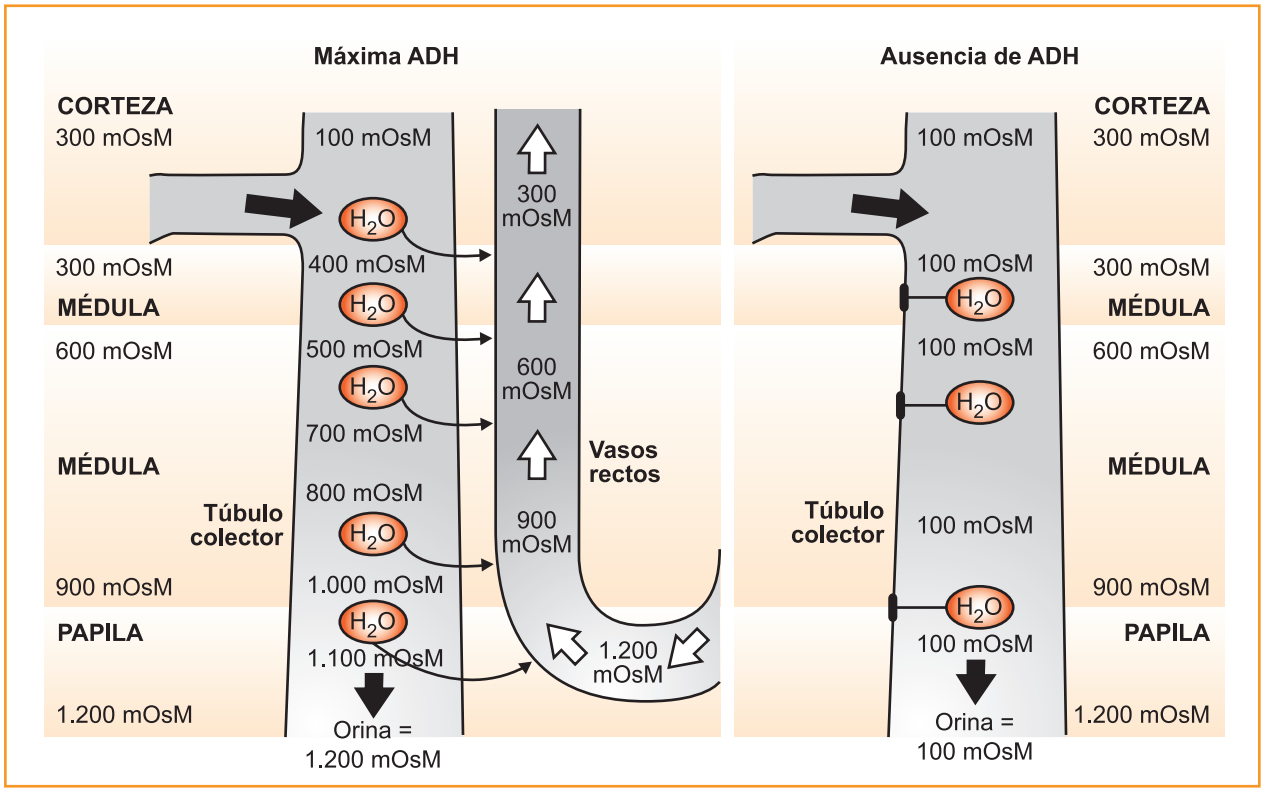


Figura 16. *Panel izquierdo: Reabsorción tubular de agua en el túbulo colector y transporte por los vasos rectos en condiciones de antidiuresis. Panel derecho: Reabsorción tubular de agua en el túbulo colector en condiciones de diuresis osmótica máxima.*

7. Balance de potasio

La resorción de K^+ en el túbulo proximal y asa de Henle es constante en casi todas las condiciones fisiológicas, por lo que al túbulo distal y colector llega un 13% de la carga filtrada (aprox. 90 mmol/día) y este segmento se encarga de los ajustes finales de la excreción de K^+ de acuerdo con la dieta.

Como se ha dicho previamente, la ingesta de K^+ puede ser mayor o menor que esa cantidad, por lo que estos segmentos pueden resorber o secretar potasio de forma neta, según lo requiera el balance de K^+. En el caso de una persona con dieta baja en K^+, hay una resorción adicional de K^+ en las células intercaladas de túbulo conector y colector, mientras que en el caso de la dieta rica en K^+ hay secreción de K^+ por parte de las células principales.

La resorción de K^+ por parte de las células intercaladas α se basa en la existencia en su membrana luminal de una H^+,K^+-ATPasa similar a la de las células del estómago. El potasio entra en la célula en contra de un gradiente de concentración en intercambio por H^+ mediante este transporte activo, y sale de la célula a favor de un gradiente de concentración a través de los canales de K^+ de la membrana basolateral. En las células principales el potasio entra a las células contra un gradiente de concentración a través de la bomba de sodio de su membrana basolateral y sale de la célula hacia el fluido tubular a través de los canales de K^+ de la membrana apical.

Por lo tanto, la cantidad neta de potasio resorbida o secretada depende de la diferencia entre la cantidad resorbida por las celulas intercaladas y la secretada por las células principales. El determinante fundamental de la secreción de potasio es el gradiente electroquímico de potasio a través de la membrana luminal, cuyo determinante principal es la concentración intracelular de potasio. El aumento de la ingesta de potasio aumenta la concentración de potasio intracelular y por lo tanto aumenta la secreción y disminuye la resor-

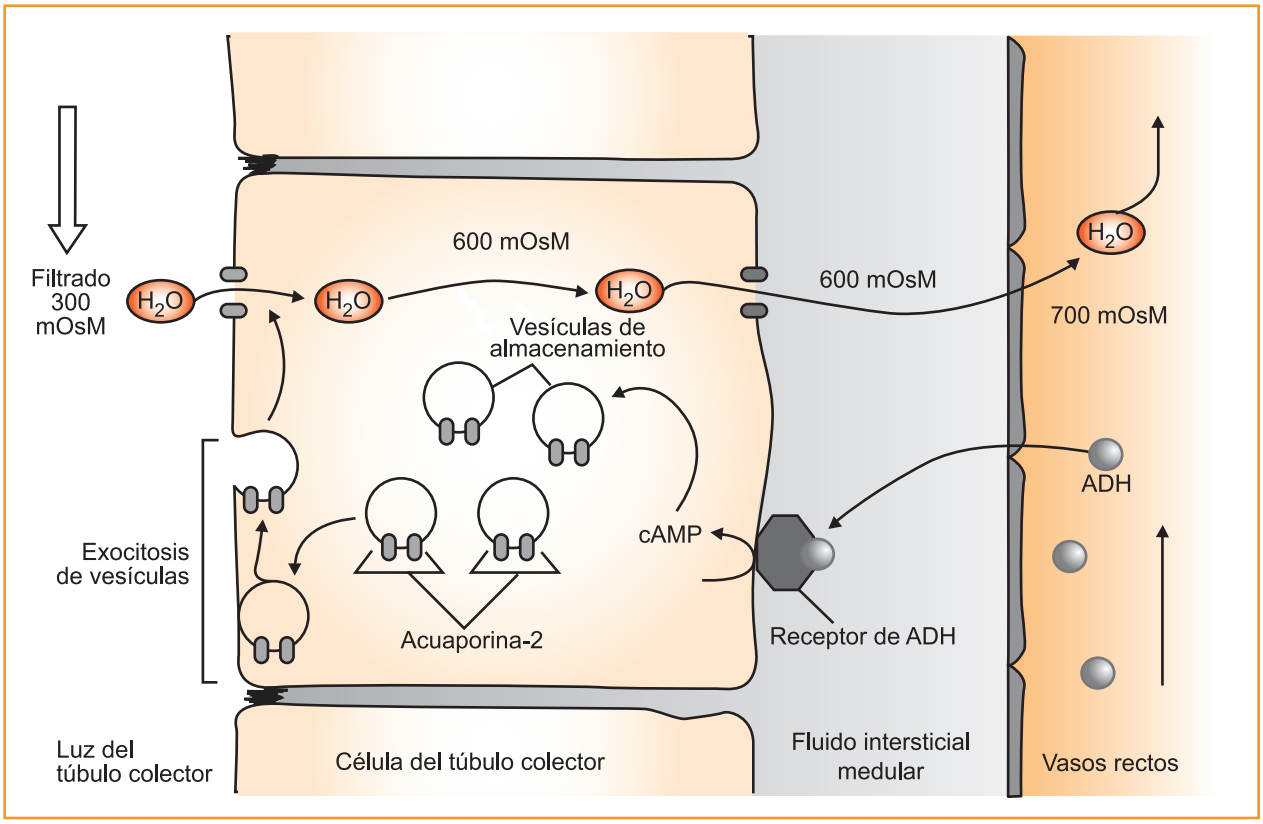


Figura 17. *Mecanismos celulares de acción de la hormona antidiurética (ADH) en las células del túbulo colector.*

ción. Además, aumenta la liberación de aldosterona, que aumentando la actividad y la cantidad de la Na^+,K^+-ATPasa aumenta la cantidad de potasio que entra en la célula y, por lo tanto, el gradiente electroquímico, lo que asociado al aumento de canales de K^+ de la membrana apical favorece la secreción. Otro factor fundamental es el equilibrio ácido-base. Si hay acidosis, los H^+ entran a la célula y salen de ella los iones K^+, por lo que disminuye su concentración intracelular y disminuye su secreción. Por ello, se observa hiperpotasemia en presencia de baja excreción urinaria de K. Por el contrario, en alcalosis, los H^+ abandonan las células para actuar como amortiguador en el líquido extracelular, lo que hace que el K^+ penetre en ellas manteniendo la electroneutralidad. Esto hace que se secrete más K^+ por la orina, a pesar de que el K^+ plasmático esté bajo. La presencia de aniones no resorbibles en la luz del túbulo distal y colector aumentan la electronegatividad de la luz tubular, por lo que favorecen también la secreción de K^+.

8. Regulación del balance de agua

El mantenimiento de la osmolaridad del medio interno, en un entorno donde el acceso al agua puede ser limitado e inconstante, ha hecho que los mamíferos superiores desarrollen un sistema homeostático de mantenimiento del balance de agua, en el que el riñón juega un papel fundamental. El organismo de los mamíferos pierde, de forma obligada, una cierta cantidad de agua, por la orina como disolvente de los metabolitos de desecho, por la piel como sudor y por la respiración como vapor de agua. Por otra parte, como consecuencia de la ingesta de alimentos, aumenta el contenido en el organismo de sustancias osmóticamente activas. Todo ello condiciona un incremento en la osmolaridad plasmática, que puede resultar nocivo.

La consecuencia directa de esta hiperosmolaridad es la activación del mecanismo de la sed, mediante el cual los animales superiores tratan

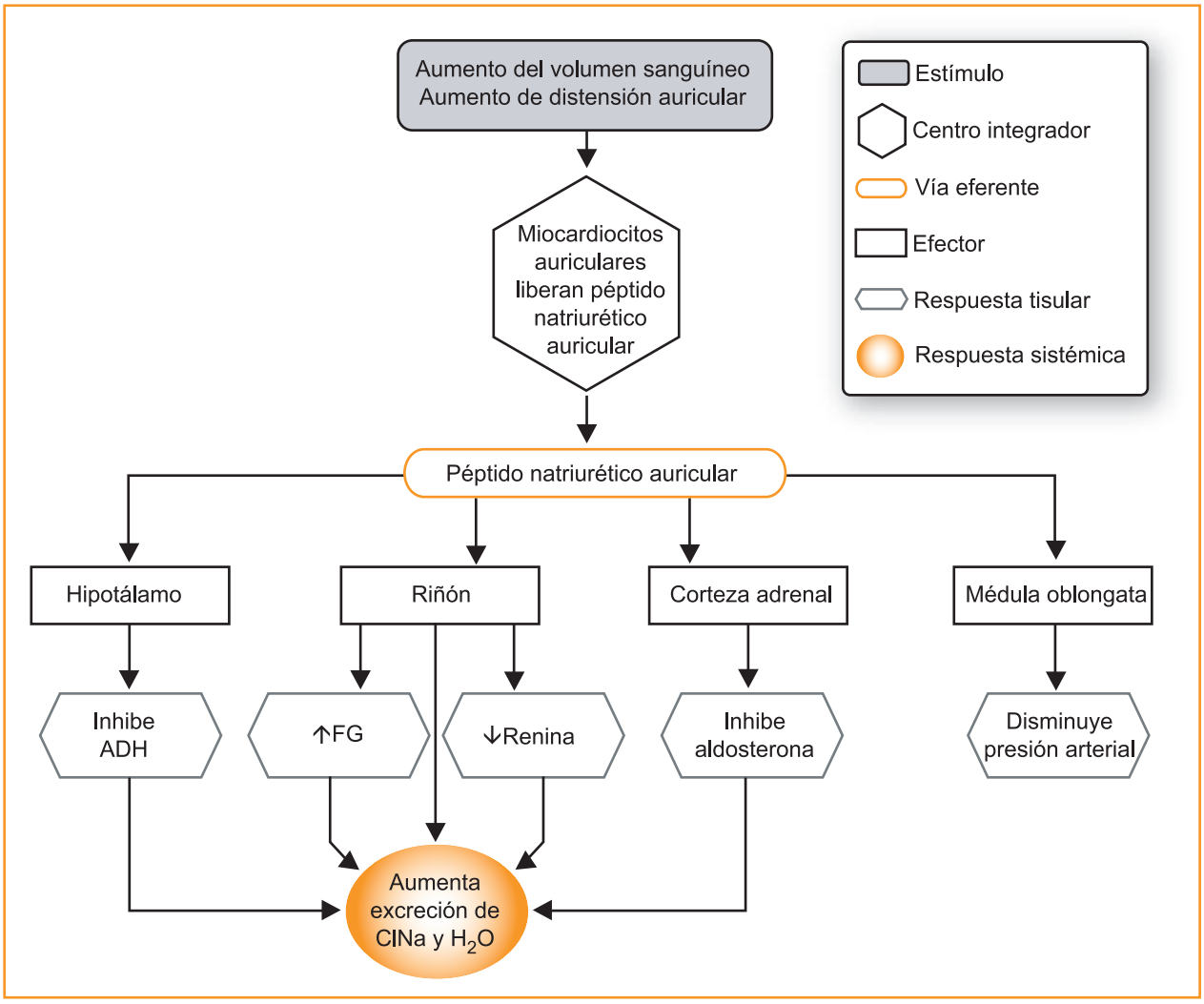


Figura 18. *Liberación de péptido natriurético auricular ante un aumento del volumen extracelular, y mecanismos de acción. ADH: hormona antidiurética; FG: filtrado glomerular.*

de incrementar su ingesta de agua por el tubo digestivo. En un ámbito natural con agua abundante, el aumento de aporte de agua normalizará la osmolaridad del medio interno. No obstante, si la disponibilidad de agua es limitada, o bien ha de transcurrir un cierto tiempo hasta tener acceso a ella, han de existir mecanismos alternativos de ahorro de agua, para mantener la osmolaridad del organismo.

Por otra parte, en ciertas ocasiones los mamíferos pueden ingerir cantidades muy abundantes de agua, superiores a sus necesidades, que podrían disminuir la osmolaridad del medio interno. También en este caso es necesario un sistema de eliminación de agua, que pueda ser finamente regulado. Estas acciones de ahorro y de eliminación de agua, en respuesta a las necesidades concretas del organismo, son realizadas por el riñón mediante la generación de una orina más o menos concentrada.

8.1. Mecanismos de concentración y dilución urinaria

Los mecanismos de concentración y dilución urinaria pueden ser descritos, en sus aspectos fundamentales, mediante conceptos simples, muchos de los cuales han sido expuestos previamente. No obstante, algunos de los mecanismos íntimos res-

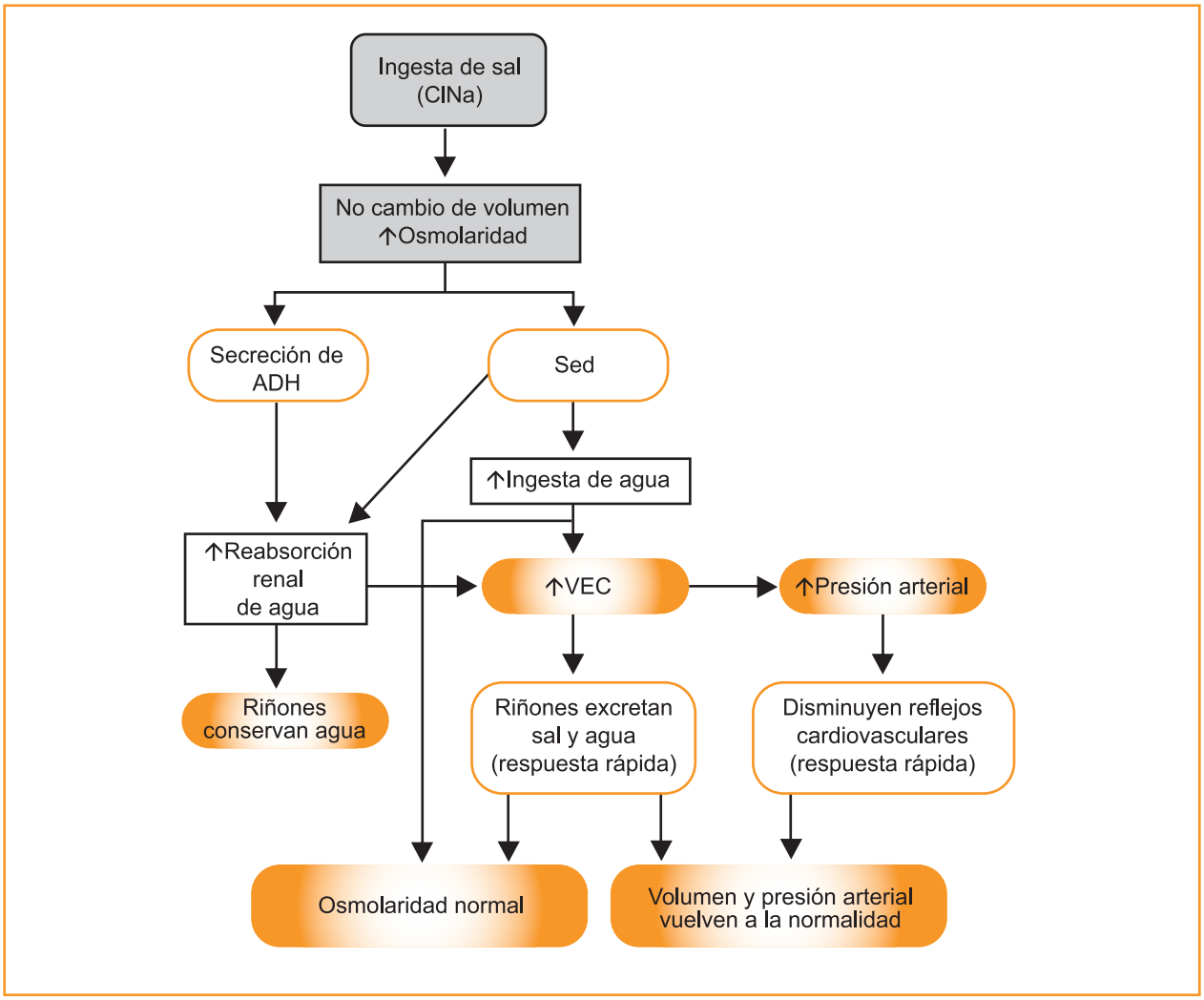


Figura 19. *Mecanismos integrados de respuesta del organismo ante un aumento de la ingesta de sal. ADH: hormona antidiurética; VEC: volumen extracelular.*

ponsables del fenómeno no se conocen con precisión, y se explican mediante una serie de hipótesis que, en grado más o menos satisfactorio, han sido documentadas experimentalmente. A continuación se analizan estos mecanismos progresivamente, haciendo especial hincapié en su grado de certeza.

Los fenómenos de concentración y dilución tienen lugar en el riñón por la conjunción de una serie de propiedades, a saber:

• Existe un gradiente de concentración en el parénquima renal, de forma que las porciones externas del parénquima tienen osmolaridades próximas a las del plasma, en torno a los 300 mOsm/l, mientras que en la papila la osmolaridad puede llegar a ser de 1.200 mOsm/l.

• El fluido tubular, tras atravesar el túbulo proximal, el asa de Henle y el verdadero túbulo distal, llega al túbulo conector con una osmolaridad muy baja, de aproximadamente 100 mOsm/l. Esto es así prácticamente en todas las condiciones fisiológicas, y sólo la manipulación farmacológica de los transportadores de los segmentos dilutores (porción ascendente gruesa del asa de Henle y túbulo distal verdadero) altera esta osmolaridad.

• La permeabilidad al agua de los túbulos conector y colector es muy variable, estando regulada por ADH.

• El flujo de sangre peritubular tiene una disposición tal que puede recoger el agua reabsorbida

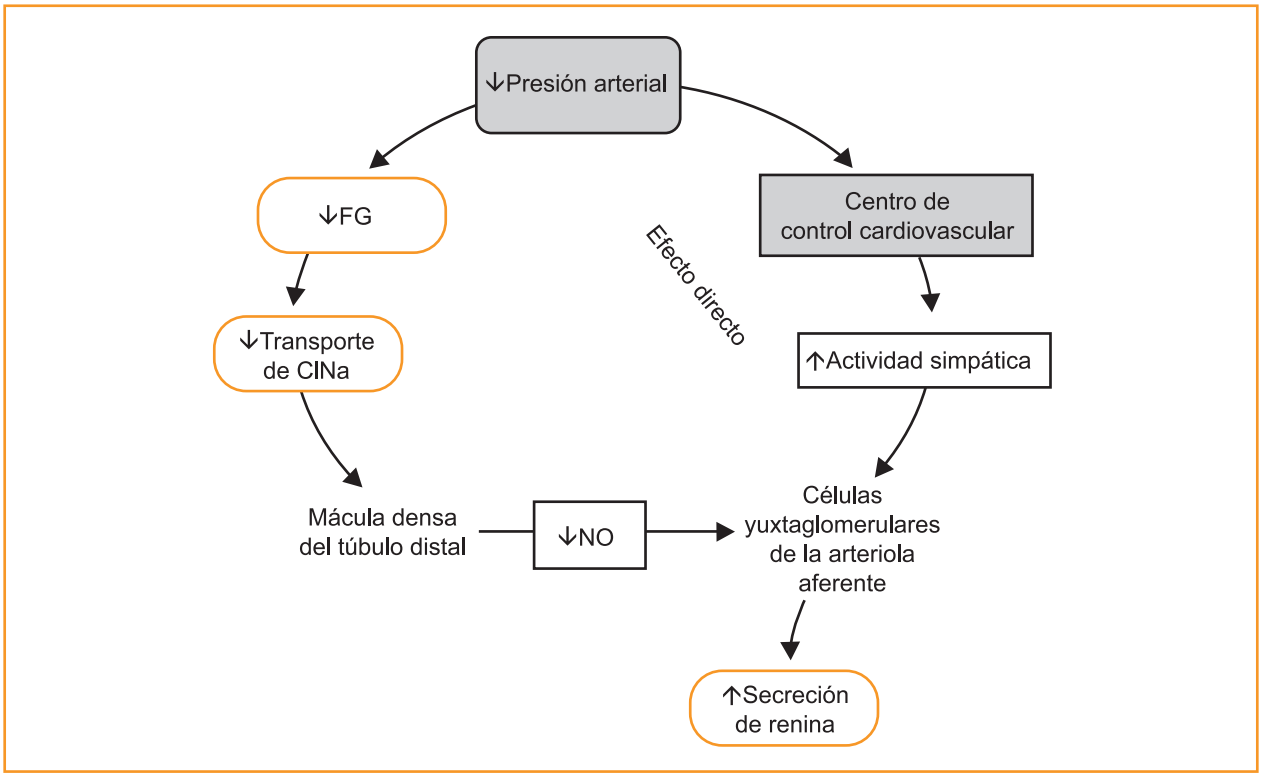


Figura 20. *Efecto de la disminución de presión arterial sobre la liberación renal de renina y mecanismos implicados.*

sin disipar el gradiente de concentración axial existente en el riñón.

Estos mecanismos se integran de la siguiente manera. El fluido hipoosmótico que llega al túbulo conector puede o no equlibrarse con el intersticio renal que lo rodea. En los casos en que sea necesario ahorrar agua, es decir, concentrar la orina, el ADH sintetizada en el hipotálamo y, liberado en la neurohipófisis como respuesta a estímulos osmóticos, condicionará un incremento en los transportadores de agua efectivos (aquaporina 2) del túbulo colector **(Figura 17)**, haciendo que la pared tubular sea permeable al agua. Ésta pasará, por un gradiente osmótico, desde la luz tubular al intersticio, determinando la formación de un fluido tubular cada vez más concentrado, dado que el parénquima renal tiene una osmolaridad progresivamente creciente. El agua reabsorbida será retirada hacia los capilares peritubulares, permaneciendo constante la osmolaridad del intersticio **(Figura 16, panel izquierdo)**. Por el contrario, cuando no sea necesario retener agua, las concentraciones de ADH serán bajas, con lo que la pared tubular mantendrá su impermeabilidad, haciendo que el fluido hipoosmótico progrese de esta forma por el túbulo colector, dando lugar a una orina diluida **(Figura 16, panel derecho)**.

8.2. Concepto de agua libre

El agua libre es el agua que se elimina en la orina libre de solutos. Su cuantificación da una idea de la eficacia de los mecanismos de dilución urinaria, de forma que una orina con más agua libre será más diluida. Evidentemente, en una orina concentrada no se elimina agua libre, sino que se eliminan solutos en exceso de agua.

La eliminación de agua libre se valora cuantitativamente midiendo lo que se conoce como "aclaramiento de agua libre" (CH_2O), que no es un aclaramiento en el sentido estricto de la palabra, sino que se calcula restando al flujo urinario el aclaramiento osmolar. La fórmula que permite el cálculo es la siguiente:

CH_2O = Diuresis - Cosm = Diuresis - Osm. orina x Diuresis/Osm. plasma

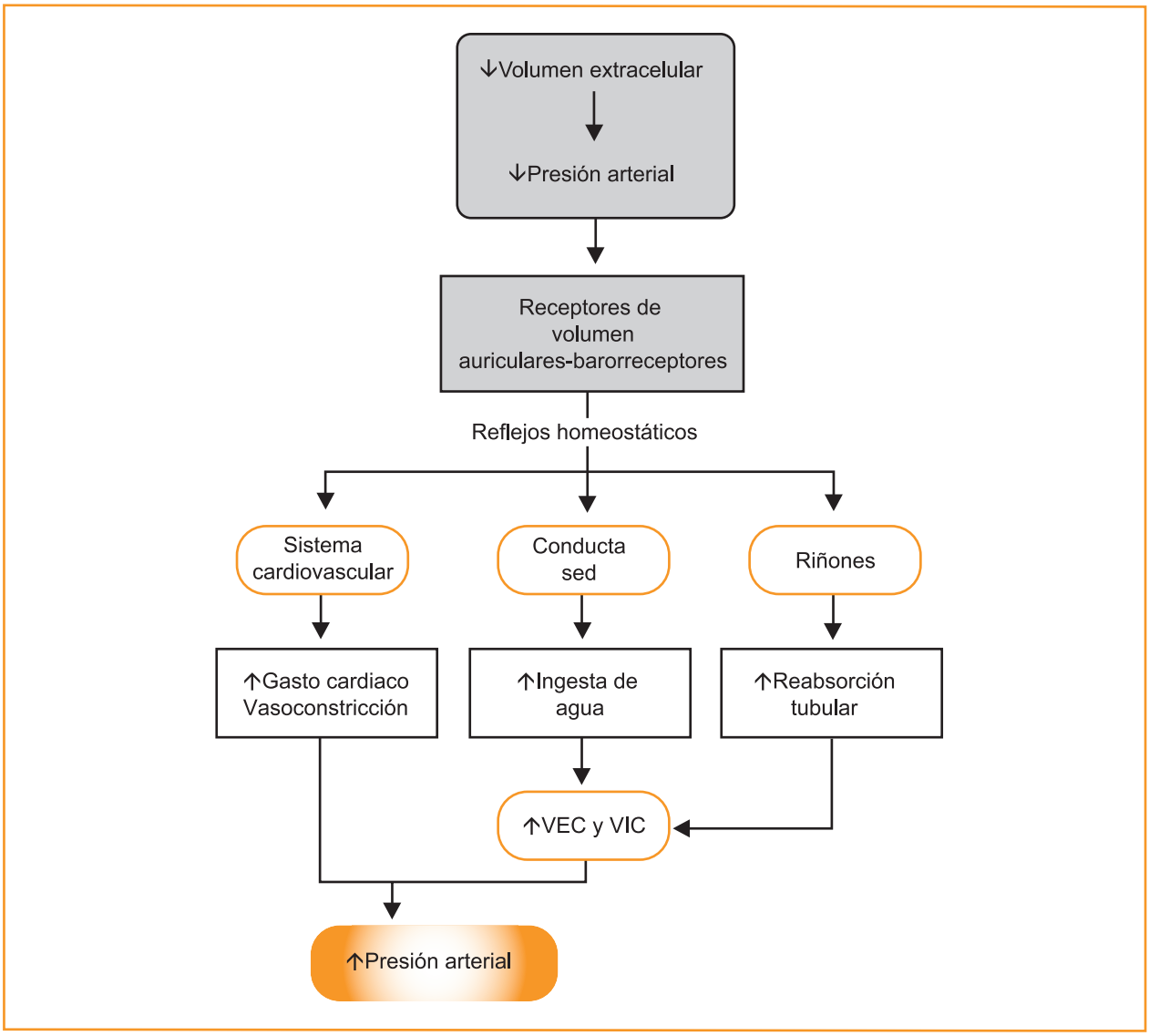


Figura 21. *Mecanismos integrados de respuesta del organismo ante la disminución de la presión arterial o del volumen extracelular (VEC). VIC: volumen intracelular.*

De donde se deduce:

CH_2O = Diuresis (1- Osm. orina/Osm. plasma)

Observando la última expresión de la fórmula, es fácil entender que en las orinas diluidas el numerador de la fracción es inferior al denominador, con lo que el CH_2O será positivo. No obstante, en las orinas concentradas, la fracción será superior a la unidad, dando un aclaramiento de agua libre negativo. Este concepto, que se suele representar como TCH_2O da una idea del aclaramiento de agua libre negativo, es decir, del grado de concentración urinaria.

8.3. Regulación de la sed

Los centros de control de la sed están situados en la porción ventromedial y posterior del hipotálamo (pared anteroventral del tercer ventrículo y núcleo supraóptico), en estrecha relación con los centros reguladores de la liberación de ADH, que

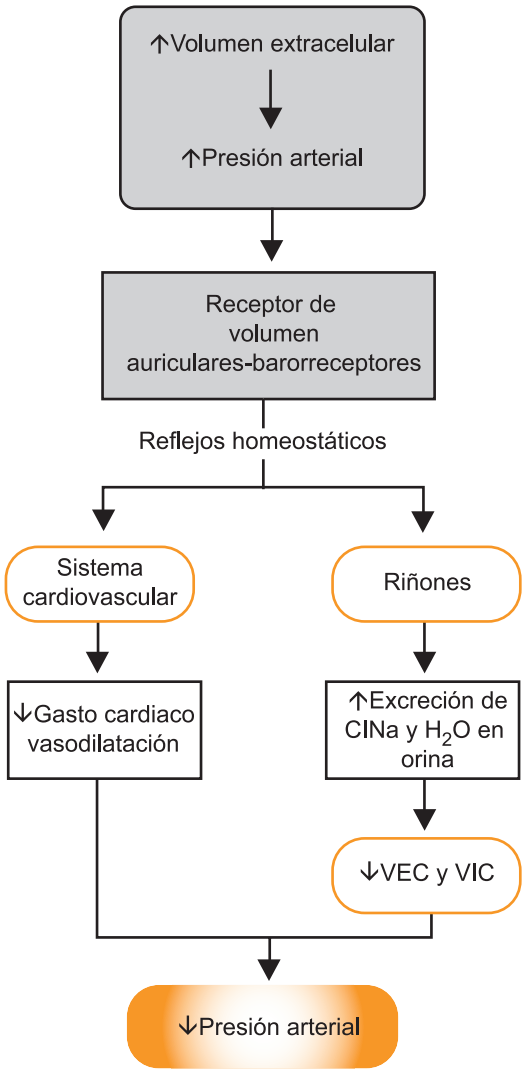


Figura 22. *Mecanismos integrados de respuesta del organismo ante el aumento del volumen extracelular y/o la presión arterial.*

va a ser la principal hormona reguladora de la eliminación renal de agua.

El estímulo principal para la sed es la disminución del volumen de agua extracelular (p. ej., durante una hemorragia) o el aumento de la presión osmótica de este compartimento. También induce sed la disminución de la presión arterial. Al menos una parte sustancial de los estímulos de la sed están mediados por la angiotensina II.

Tanto la disminución del volumen extracelular como de la presión arterial inducen la liberación renal de reina, que cataliza la hidrólisis de una proteína circulante de origen hepático, el angiotensinógeno, dando lugar a un decapéptido, la angiotensina II, que a su vez es transformada en angiotensina II, un octapéptido por una exoenzima endotelial, la enzima convertidora de la angiotensina II **(Figura 12)**.

La angiotensina II actúa sobre el órgano subfornicial y sobre el órgano vasculoso de la lámina terminal (situado inmediatamente por debajo de la pared ventral del tercer ventrículo). Ambos órganos están fuera de la barrera hémato-encefálica, por lo que hasta ellos pueden acceder los péptidos circulantes. También tienen gran importancia en el estímulo de la sed la sequedad de las mucosas bucales y esofágicas. Esto es lo que explica que una persona sedienta pueda sentir alivio de su sed inmediatamente después de haber bebido, sin que haya dado tiempo a absorber el agua por la mucosa del aparato digestivo. Esta sensación de saciedad también puede explicarse por la distensión gastrointestinal, especialmente la del estómago.

9. Resumen

- En este Capítulo se hace una revisión general de las funciones básicas del agua y los electrólitos, de su distribución y de la regulación del contenido corporal de los mismos por parte del riñón. En nuestro organismo el agua es el componente individual de mayor magnitud, y representa una media de un 60% del peso corporal. El contenido corporal total de agua presenta notables variaciones entre los diversos individuos. Estas variaciones vienen determinadas fundamentalmente por la edad, la cantidad de tejido adiposo y el sexo.

- Este medio líquido está dividido en dos compartimentos principales separados por las membranas celulares. El mayor de ellos es el compartimento intracelular, que representa aproximadamente dos terceras partes del agua corporal total, mientras que el resto está en el compartimento extracelular, o volumen extracelular (VEC). A su vez el compartimento extracelular puede subdividirse en otros dos, el líquido que rodea las células de los tejidos sólidos, o líquido intersticial (VI), y el líquido correspondiente al plasma sanguíneo.

- El compartimento intracelular y el extracelular tienen la misma osmolaridad total, pero su composición en sustancias disueltas es completamente diferente. El principal catión del líquido extracelular es el sodio, mientras que los principales aniones son el cloruro y el bicarbonato. Los principales aniones del líquido intracelular son el fosfato, las proteínas (que son aniones a pH fisiológico) y otros aniones orgánicos, mientras que la concentración de cloruro es muy baja. El catión principal es el potasio, seguido por el magnesio mientras que la concentración de sodio es muy baja.

- Tanto el volumen como las propiedades físico-químicas del líquido intra y extracelular, incluyendo la composición individual de los diferentes solutos, deben mantenerse dentro de unos estrechos márgenes para que las células funcionen normalmente. Diversos factores tienden a modificar el volumen y la composición del líquido extracelular: los más importantes son la ingesta o eliminación de agua y electrólitos y la adición al medio de productos de desecho del metabolismo celular.

- En el organismo existe una regulación activa para mantener la constancia del medio interno de cara a todas las circunstancias que pudieran alterarlo. Esta regulación activa se basa fundamentalmente en dos sistemas que ejercen independientemente su capacidad reguladora:
  1. El ajuste de la ingesta por parte del aparato digestivo (sed, apetito).
  2. El ajuste de las eliminaciones por el riñón.

- La misión fundamental del riñón consiste en estabilizar el volumen y las características físico-químicas del líquido extracelular, e indirectamente del compartimento intracelular mediante la formación de orina. Para ello, el riñón conserva el agua y los solutos presentes normalmente en el organismo; conserva los electrólitos constituyentes de los fluidos del organismo, fundamentalmente sodio, potasio, cloruro y bicarbonato; elimina el exceso de agua, electrólitos y osmoles procedentes de la ingesta; elimina los productos metabólicos de desecho (urea, creatinina, hidrogeniones) o productos tóxicos que pueden haber penetrado en el organismo. Esto se realiza mediante dos procesos fundamentales:
  a) La formación de un gran volumen de ultrafiltrado (150 l/día) de líquido extracelular mediante un mecanismo pasivo de filtración transcapilar en los ovillos capilares de los glomérulos renales.
  b) El procesamiento de este fluido mediante reabsorción y secreción selectiva de agua y electrólitos, con el resultado de la producción de una cantidad de orina cuyo volumen y cuya composición dependen, en condiciones fisiológicas, del volumen y de la composición del líquido extracelular **(Figura 4)**.

- De esta forma, en condiciones normales, la eliminación urinaria de los iones más importantes del líquido extracelular (Na^+, Cl^-, K^+) y del agua que los diluye es similar a la ingesta, por lo que su cantidad total en el organismo y, por lo tanto, su concentración en los diversos compartimentos líquidos, no varía. En estas circunstancias, aproximadamente el 99% del agua filtrada es conservada, permitiendo la excreción de sólo 1-2 litros diarios, una cantidad similar a la ingesta. Por lo tanto, el balance entre ingesta y eliminación urinaria de agua y de electrólitos es 0.

- En la regulación de este balance intervienen unos sistemas sensoriales (receptores de volumen, de presión y quimiorreceptores), el sistema nervioso autónomo, diversos sistemas hormonales, entre los que destacan el sistema renina-angiotensina-aldosterona, hormona antidiurética y péptido natriurético auricular, y adaptaciones integradas de la función renal y cardiovascular.

10. Bibliografía

Ayus JC. Trastornos de la osmolaridad de los líquidos orgánicos. Alteraciones del sodio. En: Hernando Avendaño L (ed.). Nefrología clínica. Editorial Médica Panamericana, SA. Madrid, 2003: 46-55.
Revisión reciente de las patologías derivadas del incorrecto balance del sodio en el organismo.

Burckhardt G, Kinne RKH. Transport proteins: cotransporters and countertransporters. En: Seldin DW, Giebisch G. The Kidney, 2nd ed. Raven Press. New York, 1992: 537-86.
Revisión en profundidad de los mecanismos de transporte transcelular de agua y electrólitos.

Caramelo C, Berl T. Trastornos de la osmolaridad de los líquidos orgánicos. Alteraciones del agua. En: Hernando Avendaño L (ed.). Nefrología clínica. Editorial Médica Panamericana, SA. Madrid, 2003: 39-45.
Capítulo que describe de forma clara y actualizada el manejo renal de agua y sus alteraciones más importantes.

Caramelo C. Regulación del volumen y la osmolaridad de los líquidos corporales. En: Fernández-Tresguerres JA (ed.). Fisiología humana, 2.ª ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 1999: 410-22.
Capítulo que revisa de una forma bastante actualizada la participación del riñón en el control del volumen y de la osmolaridad de los líquidos del organismo.

Dworkin LD, Brenner BM. The renal circulations. En: Brenner BM (ed.). The Kidney. Saunders. Philadelphia, 1996: 247-85.
Descripción en profundidad de la circulación renal y sus mecanismos de regulación.

García-Estañ J, Ortiz MC, Atucha MN. Hemodinámica renal y filtración glomerular. En: Fernández-Tresguerres JA (ed.). Fisiología humana, 2.ª ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 1999: 386-95.
Capítulo que revisa y actualiza los mecanismos de filtración glomerular y su regulación.

López-Novoa JM. Mecanismos de concentración y dilución urinarias. En: Fernández-Tresguerres JA (ed.). Fisiología humana. McGraw-Hill Interamericana de España. Madrid, 1992: 460-71.
Este texto describe de forma exhaustiva los mecanismos implicados en la formación de orina concentrada o diluida.

López-Novoa JM, Rodríguez-Puyol D. Función renal: Conceptos generales. En: L. Hernando Avendaño (ed). Nefrología clínica. Editorial Médica Panamericana, SA. Madrid, 2003: 19-36.
Descripción muy simple y esquemática de los mecanismos de formación de orina.

Tejedor A. Regulación del volumen extracelular y fisiopatología de la formación del edema. En: Martínez Maldonado M, Rodicio JL, Herrera Acosta J. Tratado de Nefrología, 2.ª ed. Ediciones Norma. Madrid, 1993: 253-97.
Capítulo que revisa de forma detallada los mecanismos de transporte de agua a lo largo de la nefrona y sus sistemas de control.

11. Enlaces web

- www.people.uleth.ca/~little/PE3600/6WaterSlidesB.pdf
- www.biology.ucsc.edu/classes/bio20b/LOWaterBalance.pdf
- www.bama.ua.edu/~shancock/NHM101/CH12.pdf
- www.garnet.acns.fsu.edu/~eaa3328/SportsNutrition/FLUID.pdf
- www.science.widener.edu/~vatnick/power_point/27-01_pptlect.ppt
- www.goldstandardsystems.com/images/IHSA-PowerPoint_6-2003.pdf
- www.planet.tvi.edu/lisagurule/120%20Water%20Fall%2003.pdf
- www.med.howard.edu/physio.biophys/MILLIS%20HOME%20PAGE_files/chap14-20/20b_lect.ppt

1.26. Regulación del equilibrio ácido-base

José Miguel López Novoa

Capítulo 1.26.

Regulación del equilibrio ácido-base

1. Introducción

2. Fisiología del equilibrio ácido-base

2.1. Definición de ácido y base

2.2. Regulación de la concentración de hidrogeniones en los líquidos corporales

2.2.1. Producción de ácidos volátiles

2.2.2. Producción de ácidos no volátiles

2.2.3. Mecanismos de control del pH de los líquidos corporales

2.3. Los sistemas amortiguadores

2.3.1. El sistema carbónico/bicarbonato

2.3.2. El sistema amortiguador de los fosfatos

2.3.3. El sistema amortiguador de las proteínas

2.4. Regulación respiratoria del equilibrio ácido-base

2.5. Control renal del equilibrio ácido-base

2.5.1. Secreción renal de hidrogeniones

2.5.2. Resorción tubular de bicarbonato y generación de acidez titulable

2.5.3. Excreción renal de amonio

2.5.4. Síntesis renal de amoniaco y su regulación

2.5.5. Cálculo de la excreción urinaria de hidrogeniones

2.6. Papel del hígado en la regulación del equilibrio ácido-base

2.6.1. Oxidación de sustratos

2.6.2. Metabolismo de ácidos no volátiles

2.6.3. Metabolismo de aminoácidos

2.6.4. Metabolismo del amonio

2.6.5. Síntesis de proteínas plasmáticas

2.7. Regulación de la concentración intracelular de hidrogeniones

2.7.1. Importancia de la concentración intracelular de hidrogeniones

2.7.2. Amortiguación intracelular

2.7.2.1. Amortiguadores intracelulares

2.7.2.2. Amortiguación metabólica

2.7.2.3. Amortiguación por los orgánulos

2.7.3. Ajuste de la concentración arterial de CO_2

2.7.4. Salida de ácidos no volátiles de las células

3. Alteraciones del equilibrio ácido-base

3.1. Conceptos de acidosis y alcalosis

3.2. Acidosis

3.2.1. Acidosis respiratoria
3.2.1.1. Acidosis respiratoria aguda
3.2.1.2. Acidosis respiratoria crónica
3.2.1.3. Tratamiento de la acidosis respiratoria
3.2.2. Acidosis metabólica
3.2.2.1. Acidosis metabólica hiperclorémica
3.2.2.2. Acidosis metabólica sin hipercloremia (con aumento del anión innominado)
3.3. Alcalosis
3.3.1. Alcalosis respiratoria
3.3.1.1. Causas de la alcalosis respiratoria
3.3.1.2. Tratamiento de la alcalosis respiratoria
3.3.2. Alcalosis metabólica
3.3.2.1. Alcalosis metabólica por exceso de mineralocorticoides y expansión de volumen
3.3.2.2. Alcalosis metabólica por contracción de volumen y exceso de mineralocorticoides
3.3.2.3. Alcalosis metabólica por carga excesiva de bicarbonato
3.3.3. Consecuencias clínicas de la alcalosis

4. Resumen

5. Bibliografía

6. Enlaces web

Objetivos

- Definir y comprender los conceptos de ácido y base.
- Comprender la importancia del mantenimiento de la constancia de la concentración de hidrogeniones.
- Explicar las fuentes de ácido en nuestro organismo.
- Entender el mecanismo de actuación de los sistemas amortiguadores y su importancia relativa.
- Comprender el papel del aparato respiratorio en la regulación de la concentración de hidrogeniones.
- Definir el papel del riñón en el mantenimiento a largo plazo del equilibrio ácido-base.
- Definir el papel del hígado en control del equilibrio ácido-base.
- Comprender la importancia de la concentración intracelular de hidrogeniones.
- Conocer los procesos involucrados en el control del pH intracelular. Definir los conceptos de alcalosis y acidosis.
- Distinguir entre acidosis respiratoria y acidosis metabólica, y explicar las causas y las consecuencias de cada una de ellas.
- Distinguir entre alcalosis respiratoria y alcalosis metabólica, y explicar las causas y las consecuencias de cada una de ellas.
- Comprender las bases del tratamiento de las alcalosis y las acidosis.

1. Introducción

La concentración de iones hidrógeno (hidrogeniones) en los líquidos corporales es relativamente baja, si se compara con otros iones, como el sodio o el potasio. Sin embargo, la regulación de la concentración de hidrogeniones es mucho más estricta que la de la mayor parte de los iones del organismo. Así, la variación normal en la concentración de hidrogeniones del líquido extracelular es un millón de veces menor que la del ión sodio.

La razón de esta gran precisión en la regulación de la concentración de hidrogeniones se debe a que pequeñas variaciones en la misma causan grandes cambios en muchas funciones celulares y, por lo tanto, se altera el funcionamiento de muchos órganos y del conjunto del organismo. La alteración de las funciones celulares se basa en el hecho de que la actividad de las enzimas es dependiente de la concentración de hidrogeniones. Como la función celular depende de la acción concertada de muchas enzimas, un pequeño cambio en la concentración de hidrogeniones puede inducir aumentos de la velocidad de ciertas reacciones y la disminución simultánea de la velocidad de otras, lo que altera profundamente la función celular.

En este Capítulo se estudiarán los diversos mecanismos involucrados en la regulación de la concentración de hidrogeniones y los órganos implicados en la misma. Asimismo, se revisarán las patologías asociadas a cambios en la concentración de hidrogeniones (acidosis y alcalosis), las causas de las mismas, sus consecuencias y su tratamiento.

2. Fisiología del equilibrio ácido-base

2.1. Definición de ácido y base

La primera aproximación científica a la química del ácido-base la hizo Arrhenius en 1887. Arrhenius definió un ácido como una sustancia capaz de disociarse en una solución acuosa para producir hidrogeniones. Esta definición identificaba la mayor parte de los ácidos conocidos en aquel tiempo. Por otro lado, definió una base como una sustancia que se disocia en una solución acuosa dando lugar a iones hidroxilo. Esta teoría no era totalmente satisfactoria, ya que varias sustancias ácidas no contienen hidrogeniones, mientras que algunas básicas no contienen hidroxilo. Además, la teoría podía aplicarse solamente a soluciones acuosas. El siguiente avance fue propuesto por Bronsted y Lowry en 1923, y es la teoría más utilizada generalmente en los textos médicos. Un ácido es definido como una sustancia que dona hidrogeniones a otra. Esta teoría no requiere una solución acuosa o una disociación, como en el caso de la Teoría de Arrhenius.

La sustancia que acepta el hidrogenión del ácido es llamada base conjugada. Esta idea del par ácido-base conjugada es una parte importante de la teoría de Bronsted-Lowry. La fuerza de un ácido se define como su capacidad para donar hidrogeniones al solvente, por ejemplo, el agua en los sistemas biológicos. Un ácido fuerte tiene una gran capacidad para donarle un protón al agua, de forma que la concentración de H_3O^+ es muy alta.

Una definición más general de ácidos y bases la realizó Lewis en 1923. La base de esta teoría eran las sustancias que exhiben propiedades ácidas en solución (como el CO_2) pero no contienen hidrogeniones. Lewis definió un ácido como cualquier sustancia que es un aceptor potencial de electrones, y una base como cualquier sustancia que es un donador potencial de electrones. En la teoría de Lewis, el hidrogenión es un ácido por sí mismo. Desde el punto de vista médico y biológico, la teoría de Bronsted-Lowry es la más fácil de entender, y explica la función de la mayor parte de los ácidos que se encuentran en los sistemas biológicos. Aunque el CO_2 no sería un ácido en esta teoría, puede entenderse si se tiene en cuenta que se une al agua para dar ácido carbónico.

2.2. Regulación de la concentración de hidrogeniones en los líquidos corporales

La regulación de las concentraciones de hidrogeniones en los líquidos corporales es uno de los aspectos más importantes de la homeostasis. La concentración de hidrogeniones en el líquido extracelular se mantiene en valores de alrededor de 4×10^{-8} Eq/l, o 7,35 expresado como pH [-log (H^+)], mientras que en la sangre arterial el pH es de 7,4. Cuando el pH arterial es inferior a 7,4, se dice que hay una situación de acidosis, mientras que, si es mayor, se dice que hay alcalosis. Pequeños cambios en la concentración de hidrogeniones en el líquido extracelular modifican de forma sustancial la velocidad de muchas reacciones químicas catalizadas por enzimas. Por lo tanto, su regulación ha de ser muy fina para poder compensar las cantidades de ácido o álcali que, provenientes de la dieta o del metabolismo tisular, se están añadiendo continuamente a los fluidos del organismo. El intervalo de valores del pH en sangre arterial compatibles con la vida es de 6,8 a 8,0, aproximadamente.

2.2.1. Producción de ácidos volátiles

Como resultado de los procesos metabólicos oxidativos en el hombre, las células del organismo producen diariamente unas 12-13 moles de CO_2 si se tiene en cuenta el metabolismo basal. La cantidad de total de CO_2 producido depende de la actividad metabólica, y puede llegar hasta 24 mol/día, con un valor promedio de alrededor de 22 mol/día. El CO_2 es un gas que estructuralmente no contiene hidrogeniones, pero funcionalmente, disuelto en los líquidos, se comporta como un ácido, ya que está en equilibrio con su forma hidratada, $CO_2 \cdot H_2O$, que, a su vez, está en equilibrio con ácido carbónico, que es un ácido débil, el más abundante en el líquido extracelular.

$$CO_2 + H_2O \rightarrow CO_2 \cdot H_2O \rightarrow CO_3H_2 \rightarrow CO_3H^- + H^+$$

Por lo tanto, la oxidación celular aporta una gran cantidad de ácido volátil, así denominado porque puede ser eliminado por la respiración.

2.2.2. *Producción de ácidos no volátiles*

En el metabolismo también se produce una cantidad menor de ácidos no volátiles como, por ejemplo, ácido láctico, que se produce en la oxidación incompleta de los hidratos de carbono, ácido acetoacético y β-hidroxibutírico, que se produce en la oxidación de los lípidos, sobre todo en ausencia de insulina, ácido sulfúrico, que se produce en la oxidación de las proteínas, y ácido fosfórico, que se produce en la degradación de fosfoproteínas, fosfolípidos y ATP. Se estima que la producción diaria de ácidos no volátiles con una dieta proteica normal (1-2 g/kg de peso corporal) es de 1 a 1,5 mEq/día/kg de peso, o sea, 70-100 mEq/día en un adulto. En esta cantidad no se incluye la cantidad de ácido láctico producido por el organismo, ya que, en condiciones normales, prácticamente todo el lactato producido es metabolizado por el hígado y el riñón, de forma que no se requiere excreción del mismo. Hay que tener en cuenta que estos valores se alteran de manera sustancial cundo varían las características de la dieta. Por ejemplo, cuando se consume una dieta hiperproteica, la cantidad de ácido no volátil producido aumenta mucho, en proporción a la cantidad de proteína ingerida. Por el contrario, las dietas vegetarianas aportan muy poco ácido volátil, e incluso, dependiendo de su composición, pueden producir aportes netos de álcali.

2.2.3. *Mecanismos de control del pH de los líquidos corporales*

Para impedir los cambios bruscos en la concentración de hidrogeniones en los fluidos del organismo, existen tres sistemas principales de control:

a) Sistemas amortiguadores (también conocidos como sistemas tamponadores) existentes en la sangre y en los fluidos corporales.

b) Regulación de la frecuencia e intensidad de la respiración por el centro respiratorio.

c) Regulación de la excreción de hidrogeniones por el riñón.

2.3. Los sistemas amortiguadores

Los sistemas amortiguadores están formados por un ácido y una base, y son capaces de amortiguar en cortísimos periodos de tiempo un influjo aumentado de iones hidrógeno o hidroxilo, sin que aumente mucho la concentración de los mismos. Los sistemas amortiguadores están presentes en el plasma, el líquido intersticial y el líquido intracelular, y los más importantes son el carbónico/bicarbonato, los fosfatos y las proteínas.

2.3.1. *El sistema carbónico/bicarbonato*

Este sistema consiste en una mezcla de ácido carbónico (H_2CO_3) y bicarbonato sódico ($NaHCO_3$) en la misma solución. El ácido carbónico es un ácido débil, ya que el grado de disociación de sus hidrogeniones es muy pequeño, en comparación con los ácidos fuertes, en los que el grado de disociación es muy grande. Cuando se añade a la solución amortiguadora un ácido fuerte, como es el clorhídrico, en el cual el grado de disociación de sus hidrogeniones es muy elevado y, por lo tanto, genera pH muy bajos, ocurre la siguiente reacción:

$$HCl + NaHCO_3 \rightarrow H_2CO_3 + NaCl$$

De esta manera, el ácido clorhídrico, un ácido fuerte, se convierte en ácido carbónico, un ácido débil, y la disminución del pH en el medio es mucho menor de la que se generaría si no existiera el bicarbonato. Si lo que se añade a la solución amortiguadora es una base o álcali fuerte (con una gran capacidad para captar hidrogeniones) como hidróxido sódico, ésta reacciona con el ácido carbónico del medio:

$$NaOH + H_2CO_3 \rightarrow NaHCO_3 + H_2O$$

De esta manera, el ión hidroxilo del hidróxido sódico se combina con el hidrogenión del ácido carbónico y forman agua, con una baja capacidad de disociación, y bicarbonato sódico, que es una base débil, por lo que el aumento del pH es mucho menor del que ocurriría en una solución sin amortiguadores. Así, el amortiguador/carbónico/bicarbonato es capaz de impedir marcados aumentos o disminuciones de la concentración de hidrogeniones, o sea, del pH.

En todos los líquidos corporales, tanto intra como extracelulares existen concentraciones importantes de este par amortiguador carbónico/bicarbonato, por lo que juega un papel básico la homeostasis del pH. Otra característica fundamental

de este amortiguador es que el elemento ácido, ácido carbónico, está parcialmente en forma de gas, dióxido de carbono (CO_2). El interés fisiológico de este hecho radica en que las concentraciones de ácido carbónico son reguladoras de la función del aparato respiratorio, que a su vez controla dichas concentraciones. Existe una relación matemática entre las concentraciones de los elementos de un sistema amortiguador en una solución y el pH de la solución. La siguiente ecuación, llamada de Henderson-Hasselbalch, expresa esta relación para el sistema amortiguador del bicarbonato:

$$pH = 6{,}1 + \log [(CO_3H^-)/CO_2]$$

Por lo tanto, cuando aumenta la concentración de bicarbonato con respecto a la de dióxido de carbono, el medio se alcaliniza y el pH aumenta, y a esta situación se la denomina alcalosis. Cuando aumenta la concentración de dióxido de carbono con respecto a la de bicarbonato, el medio se acidifica y el pH disminuye. A esta situación se la denomina acidosis.

2.3.2. El sistema amortiguador de los fosfatos

En el líquido extracelular existe otro sistema formado por el fosfato monosódico (H_2PO_4Na), que actúa como un ácido débil, y el fosfato disódico (HPO_4Na_2), que actúa como una base débil. Cuando se agrega ácido clorhídrico a la disolución, ocurre la siguiente reacción:

$$HCl + Na_2HPO_4 \rightarrow NaH_2PO_4 + NaCl$$

El resultado neto de esta reacción es que los hidrogeniones del ácido clorhídrico se transfieren al fosfato ácido, un ácido débil, de modo que, al tener una baja capacidad de disociación, el pH varía muy poco. Si lo que se añade a la disolución es hidróxido sódico, la reacción que ocurre es la siguiente:

$$NaOH + Na\,H_2PO_4 \rightarrow Na_2HPO_4 + H_2O$$

De esta forma, el ión hidroxilo del hidróxido sódico se combina con el hidrogenión del fosfato monosódico (ácido) y forman agua, con una bajísima capacidad de disociación, y fosfato disódico, que es una base débil, por lo que el aumento del pH es mucho menor del que ocurriría en una solución sin amortiguadores.

2.3.3. El sistema amortiguador de las proteínas

Las proteínas tanto intra como extracelulares, estructurales y en solución, forman uno de los sistemas amortiguadores más importantes del organismo, debido a sus altas concentraciones. La mayor parte de las proteínas, a pH cercano al fisiológico, están en forma aniónica, con una cierta cantidad de hidrogeniones disociados (proteinatos). Esto les permite aceptar un exceso de hidrogeniones (actuando como base débil) o liberar hidrogeniones que reaccionan con los iones hidroxilo para formar agua, actuando como un ácido débil. Otra ventaja adicional de las proteínas como sistema amortiguador es que, al tener un amplio rango de pK, son eficaces en un amplio rango de pH.

Es interesante el hecho de que la generación de hidrogeniones ocurre en los procesos metabólicos de oxidación y catabolismo y, por lo tanto, ocurre intracelularmente. Es en el interior celular donde ocurre también la mayor parte de los procesos de amortiguación (alrededor de un 75%), de manera que la continua generación intracelular de hidrogeniones no afecta, en condiciones normales, al pH de los líquidos extracelulares. También la amortiguación intracelular es capaz de amortiguar los cambios en pH de los líquidos extracelulares, aunque esto viene limitado en el tiempo por la lentitud de la difusión de hidrogeniones a través de las membranas celulares, excepto en los eritrocitos, en los cuales la difusión es mucho más rápida.

2.4. Regulación respiratoria del equilibrio ácido-base

Como se ha mencionado anteriormente, en el interior de las células está continuamente formándose CO_2 en los procesos metabólicos de oxidación de moléculas hidrocarbonadas. El CO_2 difunde al líquido intersticial y de ahí a la sangre, siendo transportado a los pulmones, donde difunde hacia el interior de los alvéolos, saliendo después a la atmósfera. Si aumenta o disminuye la

velocidad de formación de CO_2 sin modificarse la ventilación alveolar, la concentración de CO_2 en el plasma aumenta o disminuye proporcionalmente, con los cambios consiguientes en el pH plasmático (siempre que no haya cambios simultáneos en la concentración de CO_3H^-). Sin embargo, la concentración de CO_2 disuelto en el plasma (que se mide como presión parcial de CO_2, o PCO_2) es también capaz de modificar la ventilación pulmonar, ya que un aumento de ella, y por lo tanto una disminución del pH, hace aumentar la concentración de hidrogeniones en el centro respiratorio del bulbo raquídeo. Éstos activan el centro respiratorio mediante una acción directa de los hidrogeniones sobre las neuronas que lo forman. Esta activación del centro respiratorio hace que aumenten la frecuencia y la profundidad de los movimientos inspiratorios, lo que aumenta mucho la ventilación alveolar y, por lo tanto, la capacidad de eliminación de CO_2. El aumento de la ventilación induce una disminución de las concentraciones plasmáticas de CO_2 y, por lo tanto, hace que el pH aumente hacia valores normales.

Este sistema homeostático, que complementa el de los amortiguadores plasmáticos, es más lento en su capacidad de restauración del pH plasmático, y no puede devolver el valor del pH a niveles normales cuando la causa que originó su variación radica fuera del sistema respiratorio. La explicación a este fenómeno es que la capacidad del CO_2 (o del pH) para activar el centro respiratorio disminuye rápidamente cuando sus valores se aproximan a los fisiológicos, de forma que el efecto estimulador de pH cercanos al 7,3 es prácticamente nulo y, por lo tanto, es difícil corregir más allá de ellos.

2.5. Control renal del equilibrio ácido-base

Los riñones son capaces de controlar la concentración de hidrogeniones de los líquidos del organismo mediante el ajuste de la excreción urinaria de los mismos, así como mediante el ajuste de la secreción de bicarbonato. La excreción de más hidrogeniones de los que son producidos reduce su concentración en los líquidos del organismo, mientras que la excreción de menos hidrogeniones que los producidos la aumenta. El bicarbonato excretado en la orina proviene del plasma, ya que es filtrado libremente en el proceso de filtración glomerular, a una concentración de alrededor de 25 mM. Si diariamente se filtran unos 150 litros de plasma, eso significa que diariamente se filtran 3,75 moles de bicarbonato, lo que, de excretarse, conllevaría una marcada disminución de su concentración plasmática. Sin embargo, en condiciones normales, una buena parte de ese bicarbonato no es excretado por la orina, ya que es devuelto a la sangre por un proceso complejo que más tarde se explicará. Sólo en situación de alcalosis, aparece una cantidad sustancial de bicarbonato en la orina, lo que ayuda a disminuir su concentración plasmática y, por lo tanto, a disminuir el pH.

El sistema renal de la corrección de las alteraciones del equilibrio ácido-base es más lento que el mecanismo respiratorio, y necesita horas o días para poder completar su función. Sin embargo, su eficacia es superior, de forma que, aunque de forma más lenta, es capaz de corregir completamente cualquier desviación del pH plasmático.

2.5.1. Secreción renal de hidrogeniones

Tanto la eliminación urinaria de hidrogeniones como la secreción de bicarbonato están basadas en la capacidad de las células tubulares renales (excepto el asa de Henle estrecha) para secretar hidrogeniones hacia la luz tubular. Hay dos mecanismos capaces de secretar hidrogeniones, el contratransporte Na^+-H^+, y la bomba de hidrogeniones dependiente de ATP (H^+-ATPasa). El primer mecanismo, el contratransporte Na^+-H^+, que se esquematiza en la **Figura 1**, es un sistema de transporte activo secundario que transporta hidrogeniones hacia la luz tubular, intercambiándolos por iones sodio, que entran de la luz tubular al interior de la célula a favor de un gradiente electroquímico (de concentración y de carga eléctrica). Este gradiente es generado por la presencia en las membranas baso-laterales de las células epiteliales de otro transportador, la bomba de sodio, o ATPasa dependiente de sodio y potasio (Na^+,K^+-ATPasa). Este transportador, presente en prácticamente todas las células de nuestro organismo, transporta sodio contra gradiente electroquímico, desde el interior al exterior de la célula, al mismo tiempo que transporta una menor cantidad de potasio en dirección contraria, utili-

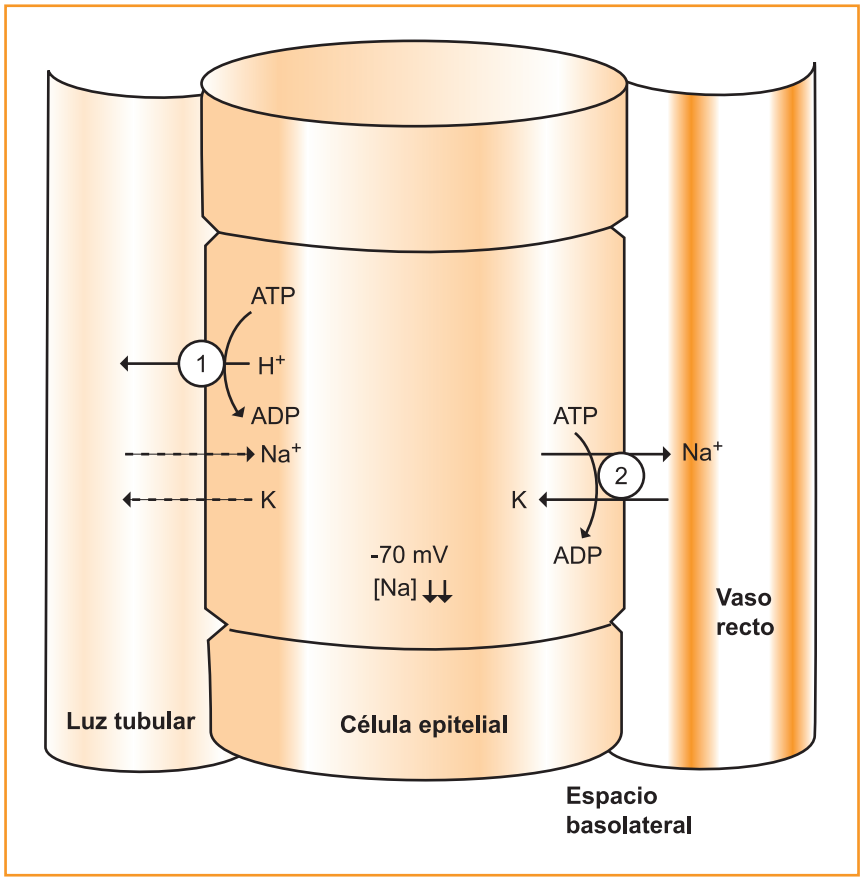


Figura 1. *Transporte activo secundario de hidrogeniones en la mayor parte del túbulo renal excepto en el túbulo colector. Los hidrogeniones son secretados desde el citosol a la luz tubular a través del borde en cepillo de las células epiteliales contra un pequeño gradiente de concentración mediante un cotransportador Na^+-H^+ (1). Al mismo tiempo, el sodio entra a la célula a favor de un gradiente eléctrico (el interior de la célula tiene un potencial de -70 mV con respecto al exterior) y químico (la concentración intracelular de Na^+ es mucho menor que la extracelular), generados ambos por la bomba de sodio, o Na^+,K^+-ATPasa presente en la membrana basolateral de las células epiteliales tubulares (2).*

zando la energía derivada de la hidrólisis del ATP (trifosfato de adenosina). Esto genera un potencial negativo en el interior de la célula con respecto al exterior, y una menor concentración del sodio en el interior de la célula con respecto al exterior. Esto hace que en las células del túbulo proximal y en las del túbulo distal, donde hay una gran densidad de cotransportadores Na^+-H^+ como proteínas integrales de la membrana apical de los túbulos, el sodio presente en el fluido tubular entre a las células epiteliales tubulares desde la luz tubular a favor de un gradiente de concentración, mientras que un hidrogenión es transportado por la misma proteína en dirección contraria, es decir, desde el fluido intracelular hasta la luz tubular. Esto permite la reabsorción tubular de sodio al mismo tiempo que se secretan grandes cantidades de hidrogeniones, varios equivalentes por día, pero nunca contra un gradiente de hidrogeniones muy grande, por lo que en estos segmentos el pH del fluido tubular no desciende muy por debajo del plasmático.

El segundo tipo de transporte, la bomba de hidrogeniones dependiente de ATP (H^+-ATPasa), se esquematiza en la **Figura 2**, y tiene lugar fundamentalmente en los túbulos distales finales y en los túbulos colectores. Es un sistema de transporte activo primario mediante el cual el hidrogenión se une a una proteína integral de membrana que lo transporta contra un gradiente eléctrico y de concentración desde el interior al exterior de la célula, utilizando la energía derivada de la hidrólisis de ATP. Desde el punto de vista cuantitativo, este mecanismo da cuenta de sólo una pequeña parte de los hidrogeniones secretados por los túbulos renales (< 5%), pero, sin embargo, es capaz de transportar hidrogeniones frente a un enorme gradiente de concentración, pudiendo concentrar los hidrogeniones en la luz tubular hasta 900 veces con respecto al plasma, lo que supone un pH urinario mínimo en el hombre de alrededor de 4,5.

En general, cuanto mayor es la concentración de hidrogeniones en el líquido extracelular, mayor es la secreción de hidrogeniones al fluido tubular. Desde un punto de vista estricto, sin embargo, la tasa de secreción de hidrogeniones por parte de las células tubulares depende de su concentración en el líquido intracelular y de la tasa de reabsorción de sodio, que, a su vez, depende fundamen-

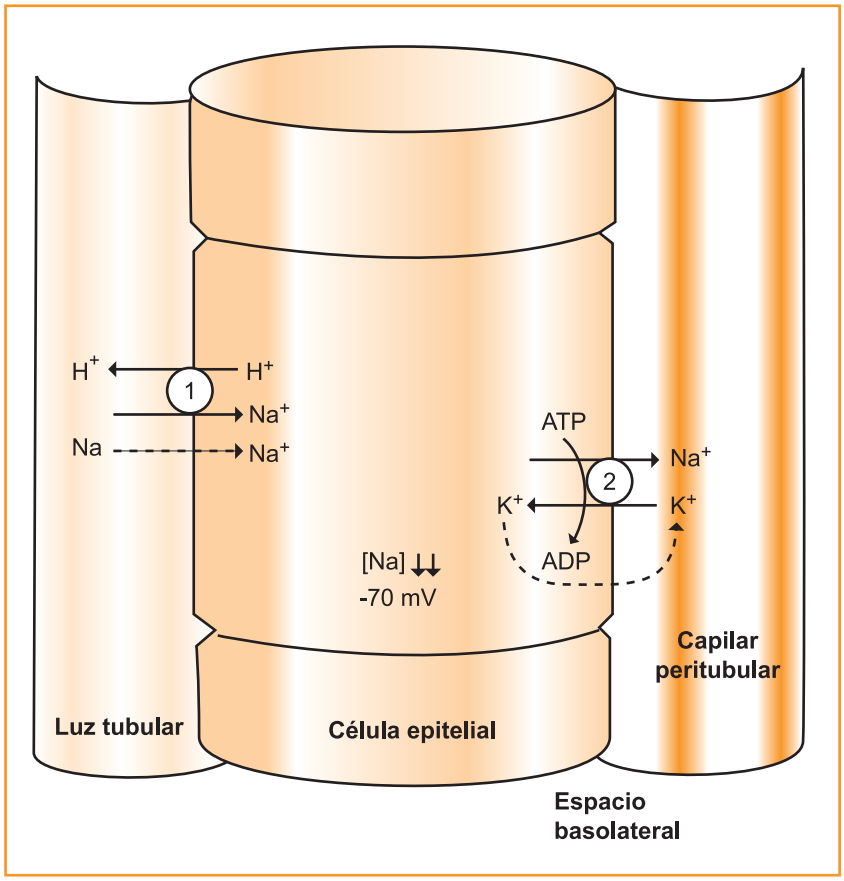


Figura 2. *Transporte activo primario de hidrogeniones en el túbulo colector. Los hidrogeniones son secretados activamente a la luz tubular contra un gradiente de concentración normalmente muy alto, por un transportador que hidroliza ATP, la bomba de hidrogeniones dependiente de ATP o H^+-ATPasa (bomba de protones).*

El dióxido de carbono procedente del metabolismo celular o del plasma se une al agua para dar ácido carbónico, en un proceso reversible y que puede ocurrir espontáneamente, pero que es acelerado por la presencia de la enzima anhidrasa carbónica. El ácido carbónico se disocia en bicarbonato (que difunde a favor de gradiente hacia el líquido extracelular) e hidrogeniones, que son transportados hacia la luz tubular por los mecanismos anteriormente descritos. En condiciones normales, cuanto mayor es la concentración de CO_2 en el líquido extracelular (menor pH, mayor acidosis), mayor es la concentración en el fluido intracelular, y mayor es, por lo tanto, la velocidad de la reacción que se acaba de describir, mayor la generación de hidrogeniones y mayor su tasa de secreción. En condiciones de alcalosis, y por el mismo razonamiento, disminuiría la secreción de hidrogeniones.

talmente del volumen de líquido extracelular. La concentración intracelular de hidrogeniones, en la mayor parte de las ocasiones, está estrictamente relacionada con la concentración en el líquido extracelular, pero no siempre es así, por dos razones diferentes.

La primera es que los hidrogeniones y el potasio compiten por concentrarse en el líquido extracelular, y cambios en la concentración intracelular de potasio se asocian a cambios en dirección contraria de la concentración intracelular de hidrogeniones. La segunda es que la mayor parte de los hidrogeniones secretados por las células tubulares son generados por la propia célula tubular en un proceso catalizado por la enzima anhidrasa carbónica y que es como sigue **(Figura 3)**:

$$CO_2 + H_2O \rightarrow CO_3H_2 \rightarrow CO_3H^- + H^+$$

2.5.2. Resorción tubular de bicarbonato y generación de acidez titulable

Una vez secretados, los hidrogeniones pueden intervenir en diversas reacciones químicas en la luz tubular, que dependen de la parte del túbulo en que hayan sido secretados y de la situación de alcalosis o acidosis. En el túbulo proximal, los hidrogeniones secretados se encuentran con una elevada concentración de bicarbonato filtrado en el glomérulo, por lo que se produce la reacción entre ellos dando ácido carbónico, que se disocia en CO_2 y agua **(Figura 3, A)**. Esta reacción, que es la misma que se acaba de describir en el interior celular, pero en dirección contraria, no daría tiempo a que transcurriera de forma espontánea antes de que la orina abandonase los túbulos renales, debido a las grandes cantidades de bicarbonato e hidrogeniones que

se aportan al fluido tubular proximal, provenientes, respectivamente, de la filtración glomerular y de la secreción proximal. Sin embargo, la existencia en la parte exterior del borde en cepillo tubular de la enzima anhidrasa carbónica, anteriormente descrita, hace que ocurra a gran velocidad y se complete en el interior de los túbulos. El CO_2 formado difunde hacia el interior de las células tubulares renales, y es utilizado en la reacción de síntesis de nuevos hidrogeniones. El resumen funcional de estas reacciones acopladas que ocurren en la célula tubular y en la luz tubular, hace que el bicarbonato filtrado desaparezca del fluido tubular y, por lo tanto, no se pierda en la orina, y que una cantidad similar de bicarbonato fabricado por las células tubulares sea restituido al plasma, desde donde se había perdido en el proceso de filtración glomerular.

En condiciones normales de pH extracelular, la secreción de iones hidrógeno es ligeramente superior a la cantidad de iones bicarbonato filtrada, por lo que hay un pequeño exceso de iones hidrógeno que se quedan dentro de los túbulos.

Por ello, más adelante en la luz tubular, cuando ya no hay cantidades sustanciales de bicarbonato, existen dos sistemas que pueden amortiguar este exceso de hidrogeniones: el primero de ellos es el par fosfato monosódico (NaH_2PO_4)/fosfato disódico (Na_2HPO_4), que provienen de las sales filtradas en el glomérulo, y que funciona de una forma similar a como funciona en el plasma, con la ventaja de que, debido a su pobre reabsorción y a la reabsorción de agua, los componentes de este sistema amortiguador se concentran en el fluido tubular, por lo que es más eficaz en la orina que en el plasma. Así, al añadirse hidrogeniones a la luz tubular, éstos reaccionan con el Na_2HPO_4, para dar NaH_2PO_4, que es una sal más ácida **(Figura 3, B)**, lo que da cuenta de la acidez neta de la orina (acidez titulable).

2.5.3. Excreción renal de amonio

El otro sistema amortiguador está formado por el par amoniaco (NH_3)/ión amonio (NH_4^+). La importancia de este sistema se basa en el hecho de que los cationes de sales de ácidos fuertes como cloruros o fosfatos monocatiónicos no pueden intercambiarse con hidrogeniones, debido a que esto exigiría una concentración de hidrogeniones en la luz tubular superior a la que es capaz de conseguir la H^+-ATPasa. Además, este nivel de pH dañaría la estructura celular de los túbulos renales. Sin embargo, el riñón dispone de otra manera de eliminar hidrogeniones sin disminuir mucho más el pH tubular y conservando bases fijas.

Para ello las células epiteliales tubulares sintetizan constantemente amoniaco mediante desaminación oxidativa de la glutamina y glutamato **(Figura 3, C)**.

El amoniaco sintetizado difunde hacia la luz tubular, donde reacciona con los hidrogeniones secretados para formar ión amonio, que, al tener una muy baja capacidad de disociación de hidrogeniones, hace que no disminuya el pH del fluido tubular por debajo de 4,5, valor por debajo del cual el gradiente se hace mayor al que puede vencer la bomba de hidrogeniones. Esto permite que, al no aumentar la concentración de hidrogeniones en fluido tubular, pueden seguir secretándose éstos hacia la luz tubular. Otro factor importante es que la cantidad de amoniaco sintetizada por el riñón aumenta en respuesta a la acidosis, con lo cual aumenta también la capacidad renal para excretar en la orina hidrogeniones sin disminuir el pH urinario.

Esta excreción urinaria de amoniaco tiene poca importancia desde el punto de vista de la eliminación de nitrógeno, que en su mayor parte es eliminado en forma de urea, pero tiene gran importancia desde el punto de vista del mantenimiento del equilibrio ácido-base.

En condiciones normales, la excreción de hidrogeniones como sales de amonio es de un orden similar a la excretada como acidez titulable. Sin embargo, en condiciones de acidosis crónica, la excreción de amoniaco puede aumentar de 5 a 10 veces, superando entonces en mucho a la capacidad de excreción de hidrogeniones como acidez titulable. Este aumento de la excreción de amonio en respuesta a la acidosis puede atribuirse a dos factores:

1. Cuanto mayor es la concentración de hidrogeniones en la orina, mayor es la capacidad de atrapamiento del amoniaco y su transformación en ión amonio en la luz tubular, y mayor, por lo tanto, su eliminación urinaria.

2. La cantidad de amoniaco sintetizada por el riñón aumenta en respuesta a la acidosis, con lo cual aumenta también la capacidad renal para excretar

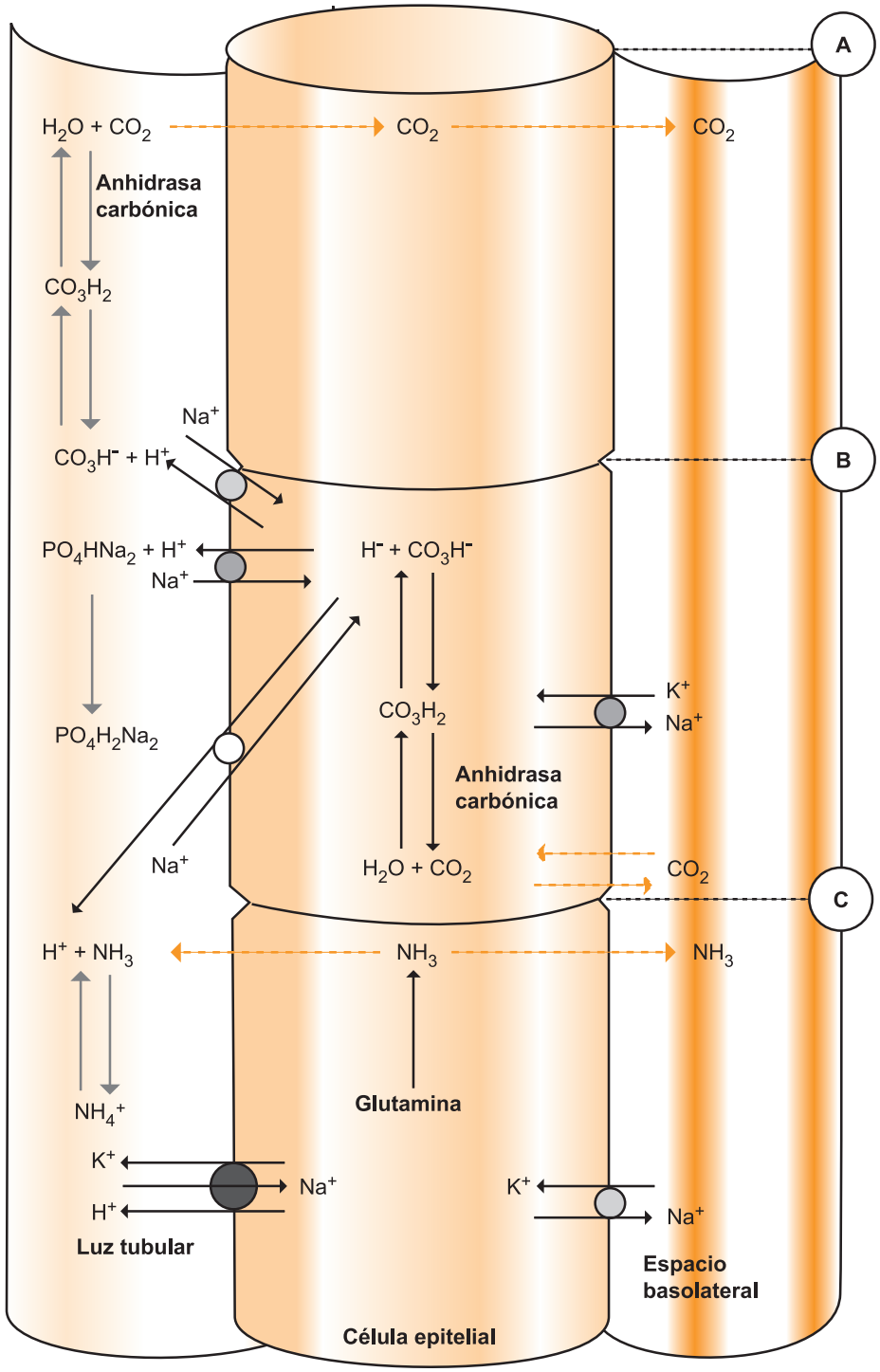


Figura 3. *Mecanismos de reabsorción tubular de bicarbonato y acidificación urinaria. Los hidrogeniones generados por la hidratación intracelular de CO_2 son secretados a la luz tubular, donde reaccionan con el bicarbonato filtrado, dando como resultado final su desaparición de la luz tubular y su aparición en el plasma (A). Una vez agotado el bicarbonato tubular, los hidrogeniones reaccionan con las sales presentes en el fluido tubular (fosfatos, sulfatos), dando lugar a sales más ácidas, responsables de la acidez de la orina (B). Si es necesario excretar más hidrogeniones, éstos se eliminan en forma de ión amonio unidos a amoniaco (sintetizado en las células tubulares) (C).*

en la orina hidrogeniones sin disminuir el pH urinario. Los mecanismos por los que ocurren estos hechos se expondrán a continuación.

2.5.4. Síntesis renal de amoniaco y su regulación

Existen dos hechos que demuestran que el amoniaco es producido en el mismo riñón. El primero es que la concentración plasmática de amoniaco es muy baja, por tanto, las cantidades de amoniaco aportadas por el filtrado glomerular son prácticamente despreciables con respecto a la cantidad excretada por la orina. El segundo hecho es que la cantidad de amoniaco que penetra por la arteria renal es menor que la que sale por la orina y menor que la que sale del riñón por la vena renal.

Más de la mitad del amoniaco excretado por la orina proviene de la desaminación del nitrógeno amídico de la glutamina del plasma. Del 16 al 25% del nitrógeno amínico de la glutamina, del 3 al 4% de la glicina, y alrededor de un 1,5% del ácido glutámico.

En condiciones de acidosis, en las que la producción de amoniaco está marcadamente aumentada, sólo aumenta prácticamente la cantidad de amoniaco que proviene de la glutamina, que puede llegar a ser un 90% del amoniaco urinario total.

La vía predominante de amoniogénesis renal corresponde al sistema enzimático glutaminasa I, cuya enzima más importante es la glutaminasa dependiente de fosfato, presente en la membrana interna de la matriz mitocondrial. Esta enzima es la responsable de la desamidación de la glutamina.

Glutamina + ADP + PO_4 + H_2O → glutamato + ATP + NH_3

En situación de acidosis, esta enzima se activa considerablemente. Otra enzima de este sistema es la glutaminasa independiente de fosfato, que se encuentra en el citosol. Esta enzima la activa el maleato, y cataliza la misma reacción, pero no se activa de forma sustancial en acidosis, lo que hace dudar de su importancia en la producción de amoniaco.

El sistema glutaminasa II está compuesto por dos enzimas citosólicas que actúan secuencialmente, la glutamina-cetoácido aminotransferasa y la ω-amidasa. La glutamina-cetoácido aminotransferasa cataliza la transferencia del grupo amino de la glutamina a un cetoácido, formándose al aminoácido correspondiente y α-ceto-glutaramato:

Glutamina + α-cetoácido → α-aminoácido + α-cetoglutaramato

La ω-amidasa cataliza la desaminación del α-cetoglutaramato a α-cetoglutarato y amoniaco.

α-cetoglutaramato → α-cetoglutarato + NH_3

La importancia de este sistema en el hombre es limitada, y no se activa en acidosis. El glutamato es catabolizado en una reacción catalizada por la glutamato deshidrogenasa del interior mitocondrial, dando lugar a α-cetoglutarato.

Glutamato + NAD → α-cetoglutarato + NADH + NH_3 + H^+

Esta enzima también se activa en acidosis. El α-cetoglutarato resultante no se acumula en las células, ya que podría inhibir la degradación del glutamato. El α-cetoglutarato se utiliza en vías gluconeogénicas, por lo que la síntesis de amoniaco está ligada en el riñón con la síntesis *de novo* de la glucosa. El amoniaco formado en el interior de las células tubulares, como ya se ha descrito, se encuentra en equilibrio con el ión amonio

NH_3 + H^+ ⇔ NH_4^+

El NH_3 es un gas que atraviesa fácilmente las membranas celulares, ya que, al ser liposoluble, atraviesa por difusión a través de la matriz lipídica, equilibrándose rápidamente la presión parcial de amoniaco (PNH_3) de la célula tubular, del fluido intersticial, de la sangre y del fluido tubular.

En la luz tubular, especialmente en el túbulo colector, el pH es mucho más bajo que en los otros compartimentos, de forma que habrá una mayor proporción de amoniaco en forma de ión amonio, y menor en forma de amoniaco.

Esto llevará a la difusión de más amoniaco desde el interior de las células tubulares a la luz hasta crearse un nuevo equilibrio.

El ión amonio, que es hidrosoluble, pasa sólo con dificultad las membranas celulares, por lo que queda "atrapado" en el interior de los túbulos renales.

Esto explica el hecho anteriormente mencionado de que cuanto más ácido sea el fluido tubular, mayor amonio se formará en él y, por lo tanto, mayor será la eliminación urinaria de amonio. La mayor parte (60-70%) del amoniaco es secretado en el túbulo proximal.

Una parte de este amoniaco puede alcanzar el túbulo colector sin pasar por el túbulo distal, pues en la rama descendente del asa de Henle hay una progresiva alcalinización del fluido tubular, debido al aumento de concentración de bicarbonato, lo que tiende a transformar el ión amonio en amoniaco, que difunde directamente desde el asa de Henle hacia los túbulos colectores, donde vuelve a transformarse en NH_4^+, debido a la gran acidez del fluido tubular en este segmento. Además del amoniaco proveniente de los túbulos proximales, estos segmentos distales también pueden sintetizar amoniaco.

Por todo lo visto anteriormente, los factores más importantes que regulan la eliminación urinaria de amoniaco y, por lo tanto, la capacidad de eliminación renal de hidrogeniones son el pH de la orina, el flujo urinario y el aumento de la producción renal de amoniaco en acidosis. Esto último se explica, a su vez, por varios mecanismos:

a) Un aumento de la entrada de glutamina a las células tubulares en situación de acidosis.

b) Un aumento de actividad de la glutaminasa dependiente de fosfato mitocondrial.

c) Un aumento de la actividad glutamato deshidrogenasa mitocondrial.

2.5.5. Cálculo de la excreción urinaria de hidrogeniones

La excreción neta de ácido (70 mEq/día en condiciones normales) puede calcularse mediante la siguiente fórmula:

Excreción urinaria de acidez titulable (25 mEq/día) + excreción urinaria de amonio (45 mEq/día) - excreción urinaria de bicarbonato (0 mEq/l)

En condiciones de acidosis aumenta la excreción de hidrogeniones fundamentalmente a costa de un aumento de la excreción de amonio (5-10 veces), mientras que en condiciones de alcalosis aumenta la excreción de bicarbonato y disminuye la de amonio y acidez titulable, por lo que la excreción total de hidrogeniones disminuye notablemente.

2.6. Papel del hígado en la regulación del equilibrio ácido-base

El hígado juega un papel importante en la regulación del equilibrio ácido base, ya que es un órgano metabólicamente activo que puede ser un importante consumidor o productor de hidrogeniones, pues produce CO_2 a partir de la oxidación completa de sustratos lipídicos o hidrocarbonados, puede producir o eliminar aniones no volátiles como ácido láctico, cetonas o aminoácidos, metaboliza ión amonio para producir urea y también sintetiza proteínas plasmáticas como la albúmina. El papel del hígado en la regulación del pH extracelular es frecuentemente olvidado en la mayoría de los textos. Las patologías más comunes del hígado dan lugar a alcalosis respiratoria y, más infrecuentemente, a alcalosis metabólica.

2.6.1. Oxidación de sustratos

La oxidación completa de hidratos de carbono y grasas que ocurre en el hígado produce CO_2 pero no ácidos no volátiles. El metabolismo hepático representa aproximadamente un 20% de la producción total de CO_2, que difunde fuera de las células hepáticas y da lugar a la producción de ácido carbónico.

2.6.2. Metabolismo de ácidos no volátiles

El hígado es capaz de metabolizar distintos cationes orgánicos como lactato, proveniente de la glucólisis anaeróbica, o cetoácidos producidos de la degradación incompleta de los lípidos, lo que da lugar a la eliminación de hidrogeniones y a la regeneración de bicarbonato extracelular.

2.6.3. Metabolismo de aminoácidos

Los aminoácidos son iones dipolares a pH fisiológico, ya que tienen tanto grupos amino como grupos carboxilo. Estos grupos participan en la formación de los enlaces peptídicos. Como estos grupos están presentes en todos los aminoácidos, la oxidación de los mismos da lugar a cantidades similares de bicarbonato y amonio, alrededor de 1 mol por día de cada uno. Los aminoácidos tienen también cadenas laterales y su metabolismo incompleto puede tener efectos sobre el equilibrio ácido-base. Así, del metabolismo de metionina y cisteína se puede producir ácido sulfúrico. La arginina, la lisina y la histidina tienen nitrógeno en sus cadenas laterales, de forma que su metabolismo produce hidrogeniones.

El glutamato y el aspartato tienen ácidos carboxílicos en sus cadenas laterales, por lo que su metabolismo consume hidrogeniones y produce bicarbonato.

El balance de todas estas reacciones es una producción neta de hidrogeniones y aniones ácidos (50 mmol/día). El hígado es el mayor productor neto de ácidos no volátiles (*ver Capítulo 1.14*).

2.6.4. Metabolismo del amonio

El hígado es el responsable de la transformación del amonio producido en el catabolismo de los grupos amino a urea. Mientras el amonio es muy tóxico para distintas funciones celulares, la urea no tiene ningún efecto tóxico, y es la forma de eliminación renal de nitrógeno. La conversión de amonio a urea da lugar a una producción equivalente de hidrogeniones. Por ello, la producción hepática de hidrogeniones depende de la ingesta proteica y del metabolismo de los aminoácidos de la dieta (*ver Capítulo 1.14*).

2.6.5. Síntesis de proteínas plasmáticas

El hígado es el mayor productor de proteínas plasmáticas, ya que sintetiza casi todas las que hay presentes en el plasma excepto las inmunoglobulinas. La síntesis de albúmina da cuenta de la mitad de todas las proteínas sintetizadas en el hígado.

La albúmina juega un papel muy importante en el equilibrio ácido base, ya que representa el mayor anión no medible del plasma, actúa como amortiguador extracelular de CO_2 y ácidos no volátiles. La hemoglobina es más importante que la albúmina fijando hidrogeniones libres.

2.7. Regulación de la concentración intracelular de hidrogeniones

2.7.1 Importancia de la concentración intracelular de hidrogeniones

La concentración de hidrogeniones más importante para el funcionamiento del organismo es la concentración intracelular, pues sus cambios causan efectos muy importantes en el metabolismo y otros procesos celulares. La concentración intracelular de hidrogeniones afecta al grado de ionización de diversos compuestos intracelulares, específicamente, actuando sobre compuestos de pequeño peso molecular modifica el grado de ionización de diversos metabolitos intermediarios, haciendo que se altere su capacidad de movimiento a través de las membranas celulares. El efecto de la concentración intracelular de hidrogeniones sobre las sustancias de alto peso molecular, especialmente las enzimas, está basado en su efecto de ionización de los residuos de aminoácidos, especialmente los de histidina.

Hay que tener en cuenta que cuando se evalúan las alteraciones del equilibrio ácido-base, siempre se miden los cambios en el plasma, o sea en el compartimento extracelular, y de ahí se infieren las condiciones del compartimento intracelular. Tanto el CO_2 como los ácidos no volátiles se producen dentro de las células, y salen de las células a favor de gradientes de concentración. El CO_2 puede cruzar las membranas celulares muy fácilmente, y lo puede hacer en las dos direcciones, dependiendo del gradiente.

Una cosa que hay que tener en cuenta es que, mientras los cambios en el pH arterial ocurren igual en todo el organismo, los cambios en el pH intracelular son característicos de cada órgano. Por ejemplo, en la cetoacidosis diabética, los cetoácidos se producen en las células del hígado, pero no en las del resto del organismo. Sin embargo, la hipocapnia compensadora produce alcalosis intracelular, que afecta a todas las células del organismo, excepto en la del hígado, debido a la producción de cetoácidos.

Aunque esto puede verse compensado, al menos parcialmente, por la entrada de cetoácidos plasmáticos a otras células (p. ej., las musculares), donde son completamente oxidadas, permite ilustrar que, observados desde el punto de vista intracelular, el sistema de control del equilibrio ácido-base es un poco más complejo que cuando se analiza exclusivamente desde el punto de vista extracelular.

El valor de la concentración intracelular de hidrogeniones varía en los distintos tipos celulares, pero se cree que oscila de 6,8 a 7,1, del orden de 0,5 unidades menos que en el compartimento extracelular. Esto es importante porque permite que la mayor parte de los metabolitos intermediarios de casi todas las reacciones fundamentales tengan una carga neta y , por lo tanto, queden atrapados en el interior de las células y no difundan al exterior con la misma facilidad que si no tuvieran carga neta. Los procesos responsables del mantenimiento del pH intracelular son los procesos de amortiguación intracelular y el ajuste de la concentración extracelular de CO_2.

2.7.2. Amortiguación intracelular

Los procesos de amortiguación de la concentración intracelular de hidrogeniones están basados en tres fenómenos completamente diferentes: presencia de sistemas amortiguadores, amortiguación metabólica y amortiguación por los orgánulos.

2.7.2.1. Amortiguadores intracelulares

En el interior de las células existen sistemas amortiguadores, que funcionan tal y como se ha descrito en el apartado 1.3. En el medio intracelular, los amortiguadores fundamentales son las proteínas (fundamentalmente los residuos imidazólicos e histidina) y los fosfatos, ya que son los que tienen un pK más próximo al pH intracelular y los que tienen concentraciones más elevadas. Hay que tener en cuenta que la amortiguación intracelular es responsable de más del 97% de toda la capacidad amortiguadora del organismo en condiciones normales, aunque puede disminuir en condiciones de acidosis metabólica (alrededor del 60%) o de alcalosis metabólica (30%). El sistema carbónico/bicarbonato también está presente intracelularmente y está involucrado en el control de la acidosis metabólica.

2.7.2.2. Amortiguación metabólica

La amortiguación metabólica o bioquímica es el fenómeno por el cual los ácidos son metabolizados a sustancias neutras en el interior de las células. Por ejemplo, el metabolismo del lactato (un ácido neto) a glucosa, que es neutra y puede abandonar las células libremente, o a CO_2 y agua, que también pueden salir fácilmente de las células, diminuye de forma efectiva y neta la concentración intracelular de hidrogeniones.

El metabolismo del lactato se activa en condiciones de acidosis intracelular, de forma que se compensa dicha acidosis. Por el contrario, en condiciones de hiperventilación (hipercapnia) se produce una alcalosis intracelular. Esto modifica la velocidad de las reacciones enzimáticas de forma que se produce más lactato, piruvato y otros metabolitos ácidos, que permiten controlar el pH intracelular de forma rápida y reversible. La amortiguación metabólica parece ser responsable de aproximadamente la mitad de la cantidad de hidrogeniones eliminada por los sistemas amortiguadores.

2.7.2.3. Amortiguación por los orgánulos

Este mecanismo está basado en el secuestro o liberación rápido de hidrogeniones por los orgánulos intracelulares en dirección contraria a los cambios en la concentración intracelular de hidrogeniones, de forma que tiende a mantenerla constante. La contribución total de este mecanismo a la amortiguación intracelular total no se ha podido calcular.

La energía liberada durante la transferencia de electrones en la cadena respiratoria de las mitocondrias se usa para liberar hidrogeniones. La energía se almacena como un gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial interna. Cuando los hidrogeniones vuelven a entrar a través de la ATPasa de membrana, la energía acumulada se utiliza para transformar ADP en ATP. La mitocondria expulsa un total de seis protones por cada átomo de oxígeno que se reduce para producir agua. Un aumento en la concentración intracelular de hidrogeniones proporciona hidrogeniones adicionales que pueden entrar en la mitocondria y contribuir a la formación de ATP y al mismo tiempo disminuir la concentración intracelular de hidrogeniones.

También los lisosomas pueden contribuir a la amortiguación de los hidrogeniones intracelulares. Las enzimas lisosómicas tienen una actividad máxima a pH ácido. Se ha demostrado que el pH de los lisosomas se modifica en la misma dirección que el pH intracelular, lo que puede interpretarse como un mecanismo que ayuda a amortiguar los cambios en concentración intracelular de hidrogeniones.

2.7.3. Ajuste de la concentración arterial de CO_2

El CO_2 se produce en grandes cantidades por las células (15-20 mmol/día). El CO_2 cruza fácilmente las membranas celulares, por lo que el CO_2 intracelular está en equilibrio con el extracelular. Como anteriormente hemos descrito, los cambios en la ventilación pulmonar modifican la concentración arterial de CO_2 y, por tanto, la concentración intracelular en todo el cuerpo.

2.7.4. Salida de ácidos no volátiles de las células

El metabolismo produce un exceso de ácido, luego el mantenimiento del pH intracelular depende, además de los mecanismos de amortiguación previamente descritos, y que son rápidos pero de corta duración, de que los ácidos sean expulsados de las células. Este proceso está basado en el intercambio acoplado de diversos iones (hidrogenión, bicarbonato, sodio, cloruro) de forma electroneutra, sin que haya cambios en el potencial transmembrana. Este mecanismo, que lleva consigo la expulsión neta de ácidos, no es tan rápido como la amortiguación intracelular, pero es de mucha mayor duración.

3. Alteraciones del equilibrio ácido-base

3.1. Concepto de acidosis y alcalosis

Cuando el pH arterial es inferior a 7,4 se dice que hay una situación de acidosis, mientras que, si es mayor, se dice que hay alcalosis. Estas alteraciones están basadas en situaciones patológicas que posteriormente se detallarán, y tienen efectos manifiestos sobre la función de diversos sistemas del organismo.

Como se ha visto antes, cualquier factor que modifique la respiración (ventilación o difusión) modifica también la capacidad de eliminación de CO_2 y, por lo tanto, su concentración plasmática. Una disminución de la ventilación induce un aumento de la concentración de CO_2, y por lo tanto una disminución del pH denominado acidosis respiratoria.

Por el contrario, un exceso de ventilación pulmonar produce el exceso contrario, que se denomina alcalosis respiratoria. Asimismo, un aumento de la producción endógena de ácidos no volátiles o una disminución de la capacidad del organismo para su eliminación induce una disminución del pH que se denomina acidosis metabólica, mientras que al proceso contrario se le denomina alcalosis metabólica.

3.2. Acidosis

3.2.1. Acidosis respiratoria

La acidosis respiratoria se caracteriza por un incremento en la PCO_2 y, a veces, por una ligera disminución del pH. Este trastorno refleja un desequilibrio entre la tasa de formación y de eliminación de CO_2, casi siempre causada por una disminución de esta última, ya que la tasa de producción de CO_2 se modifica poco y es fácilmente compensada por una función pulmonar normal.

En la medida en que aumenta la PCO_2, también lo hace la cantidad de CO_2 disuelto, lo que favorece la formación de ácido carbónico y, por lo tanto, de hidrogeniones libres en los líquidos del organismo.

$$CO_2 \rightarrow H_2CO_3 \rightarrow CO_3H^- + H^+$$

A medida que el pH intracelular se reduce, las células tubulares aumentan su secreción de iones hidrógeno, lo que genera nuevo bicarbonato, y una mayor excreción de orina ácida e iones amonio y cloruro, lo que puede conllevar una disminución de la concentración plasmática de cloruro y un

Tabla I. DIAGNÓSTICO DE LAS ACIDOSIS

PCO_2 plasmática y bicarbonato bajos: acidosis metabólica

- **Cloruro alto: acidosis metabólica hiperclorémica**
  - Bicarbonato urinario alto o pH urinario alto: acidosis tubular renal
    - i) Bicarbonato en orina alto: acidosis tubular renal proximal
    - ii) Bicarbonato urinario normal y pH urinario alto: acidosis tubular renal distal
  - Bicarbonato urinario normal y pH urinario alto: pérdidas de bicarbonato
  - pH urinario bajo: administración de sustancias con alto cloruro
- **Cloruro normal: acidosis metabólica no hiperclorémica**
  - Aumento de butirato o acetoacetato: diabetes, inanición, ayuno
  - Aumento de ácido láctico: ejercicio excesivo, hipoxia tubular, fenformina, cirrosis, pancreatitis
  - Aumento de sulfatos: administración de metionina
  - No aumento de aniones conocidos
    - i) No genético: intoxicación por cadmio, etilenglicol, paraaldehído, salicilatos
    - ii) Genético: déficit de propionil-CoA-carboxilasa

PCO_2 plasmática alta: acidosis respiratoria

- **Bicarbonato < 30 mEq/l, Cl^- normal, pH urinario normal o bajo: acidosis respiratoria aguda**
  - Obstrucción de los conductos respiratorios
  - Supresión de centros respiratorios (hipnóticos, sedantes)
  - Trastornos musculares o neuromusculares
  - Enfermedad aguda pulmonar o de la pared torácica
- **Bicarbonato entre 30 y 40 mEq/l, cloruro bajo, pH urinario bajo, acidosis respiratoria crónica**
  - Enfermedad pulmonar crónica
  - Anomalías neuromusculares crónicas
  - Supresión crónica de centros respiratorios
  - Obesidad masiva con reducción de la ventilación (síndrome de Pickwick)
  - Hipoventilación alveolar primaria o idiopática

aumento de los niveles de bicarbonato, que, de acuerdo con la ecuación de Henderson-Hasselbalch, impide cambios bruscos del pH del líquido extracelular.

Los datos de laboratorio que caracterizan la acidosis respiratoria son, por lo tanto, una disminución de la PCO_2 y un aumento del bicarbonato, que pocas veces supera los 30 mEq/l, en la acidosis respiratoria aguda, y hasta 40 mEq/l en la acidosis respiratoria crónica compensada, con una reducción, en este caso, del cloruro plasmático, sin cambios en sodio o en potasio. El pH urinario es ácido en las acidosis respiratoria crónicas, con aumento de la excreción de ión amonio, y puede ser normal en las agudas.

Un esquema de los datos que permiten el diagnóstico de los distintos tipos de acidosis se muestra en la **Tabla I**.

Tabla 2. CAUSAS DE LAS ACIDOSIS RESPIRATORIAS

Acidosis respiratoria aguda

- **Obstrucción de los conductos respiratorios**
  - Pasiva
    - i) Endomurales (aspiración de vómito o alimentos, cuerpo extraño)
    - ii) Intramurales (neoplasias, edemas, estructuras fibrosas, edema laríngeo)
    - iii) Extramurales (hipertrofia de ganglios linfáticos, bocio, tumores tímicos)
  - Activa: espasmo laríngeo, broncoespasmo grave
- **Supresión de la función de los centros respiratorios (hipnóticos, sedantes)**
- **Trastornos musculares o neuromusculares**
  - Miastenia grave
  - Lesiones cerebelosas
  - Síndrome de Guillain-Barré
  - Botulismo
  - Hipokaliemia
- **Enfermedad aguda pulmonar o de la pared torácica**
  - Lesiones de la pared torácica (neumotórax)
  - Neumonía
  - Inhalación de humos
  - Edema pulmonar o embolización pulmonar

Acidosis respiratoria crónica

- **Enfermedad pulmonar crónica**
  - Enfisema obstructivo o bronquitis crónica
  - Enfermedad pulmonar intersticial en fase final
- **Anomalías neuromusculares**
  - Poliomielitis
  - Parálisis diafragmática
  - Miastenia grave
- **Supresión crónica de la función de los centros respiratorios**
- **Obesidad masiva con reducción de la ventilación (síndrome de Pickwick)**
- **Hipoventilación alveolar primaria o idiopática**

3.2.1.1. Acidosis respiratoria aguda

La hipoventilación aguda responsable de este tipo de acidosis se debe a tres causas fundamentales: obstrucción de las vías respiratorias, anormalidades musculares o nerviosas, supresión de la actividad de los centros respiratorios y enfermedad aguda de los pulmones o de la pared torácica **(Tabla 2)**.

La obstrucción de las vías respiratorias puede ser activa (por espasmo agudo de los bronquios o de la laringe) o pasiva. Esta última puede deberse a causas externas a la pared de las vías (endomurales: secreciones bronquiales, aspiración de alimentos o vómito, o cuerpos extraños), causas propias de la pared de las vías (intramurales: neoplasias, edemas, estructuras fibrosas) o causas que comprimen las vías desde el interior (extramurales: hipertrofia o tumores de ganglios linfáticos, tumores del cuello, bocio, etc.). Ciertos barbitúricos, derivados del opio, tranquilizantes y otros fármacos pueden producir la

depresión de los centros respiratorios, por lo que éstos no responden al aumento de la PCO_2. Los trastornos agudos de la musculatura de la pared pulmonar o de los centros y vías nerviosas encargados de su control también producen una diminución de la ventilación. Entre las causa más frecuentes están los trastornos de los músculos respiratorios (distrofias musculares, polimiositis), los trastornos de la placa motora (miastenia grave, botulismo, tóxicos con acción anticolinesterásica como la paradiona), o trastornos de las vías y centros nerviosos. Estos últimos pueden ser puramente periféricos (síndrome de Guillain-Barré, difteria, porfiria intermitente), lesiones del asta anterior de la médula (poliomielitis, esclerosis lateral amiotrófica), lesiones espinales (traumas, mielitis aguda, compresión espinal alta, tumores espinales) o lesiones de las neuronas de los centros respiratorios medulares (infecciones como poliomielitis y encefalitis, traumas, hemorragias cerebelosas o tumores locales). Por último, las afecciones agudas del pulmón (neumonía grave, edema pulmonar, embolismo pulmonar) y de la pared torácica (neumotórax) también pueden disminuir drásticamente la función pulmonar y dar lugar a acidosis respiratoria aguda.

3.2.1.2. Acidosis respiratoria crónica

Tiene como causas fundamentales la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (asma, bronquitis crónica, enfisemas), anormalidades musculares o nerviosas, ya consideradas anteriormente para la acidosis aguda, fallo cardiocirculatorio por obesidad excesiva en pacientes con peso superior a 150 kg (síndrome de Pickwick) y, por último, hipoventilación alveolar idiopática, enfermedad de causa desconocida, probablemente genética, en la que, junto con otras alteraciones, hay disminución de la ventilación sin bronquitis ni alteraciones neuromusculares o de la caja torácica **(Tabla 2)**.

3.2.1.3. Tratamiento de la acidosis respiratoria

Se basa en la corrección de la capacidad de ventilación, instaurando ventilación mecánica en los casos de sobredosis de fármacos o disfunción neuromuscular. La administración de pequeñas dosis de bicarbonato sódico a pacientes gravemente acidóticos puede, además de corregir la acidosis, mejorar la ventilación en pacientes con asma aguda por su efecto broncodilatador. Sin embargo, la administración de bicarbonato tiene también complicaciones potenciales como, por ejemplo, el aumento de congestión pulmonar en pacientes con edema pulmonar, o alcalosis metabólica por exceso de bicarbonato cuando la mejora de la ventilación corrige la PCO_2. En el caso de la acidosis respiratoria crónica, el objetivo debe ser eliminar los componentes broncoconstrictivos e inflamatorios de la enfermedad subyacente mediante el uso de broncodilatadores, expectorantes, antiinflamatorios y antibióticos, sin que suela ser necesario el tratamiento de la acidosis *per se*.

3.2.2. Acidosis metabólica

Cuando el exceso de la concentración de iones hidrogeniones en el plasma no se debe primariamente a una modificación de la capacidad de excreción de CO_2, sino a un aumento en el equilibrio de producción/eliminación de hidrogeniones o de iones hidroxilo, se denomina acidosis metabólica.

Las manifestaciones clínicas de la acidosis metabólica dependen en parte de los signos y síntomas del trastorno primario causante de la acidosis, pero la acidosis, *per se*, produce también signos y síntomas que dependen de su gravedad. El aumento de la concentración de hidrogeniones, sobre todo si hay disminución de la concentración de bicarbonato (< 15 mEq/l), produce aumento de la frecuencia y profundidad de los movimientos ventilatorios (respiración de Kussmaul), lo que sirve para diagnosticar esa alteración. El efecto más importante de la acidosis grave es la disminución de la función ventricular izquierda y disminución de las resistencias periféricas por vasodilatación directa del músculo liso vascular inducida por la elevada concentración de hidrogeniones. Esto se traduce en hipotensión, arritmias, edema pulmonar, e hipoxia de los tejidos, por disminución de las funciones de intercambio capilar. Esta hipotensión no puede corregirse con sustancias vasoconstrictoras, si no se corrige previamente la acidosis. Otra consecuencia de la acidosis metabólica es la depresión del sistema nervioso central, con desorientación, pérdida de la conciencia y, en los casos más graves, coma.

En el diagnóstico de la acidosis metabólica la característica fundamental es la disminución del pH plasmático, acompañado de una reducción de las

concentraciones de bicarbonato, y debido a la compensación respiratoria, una tendencia a la reducción de la PCO_2. Las concentraciones de potasio pueden ser normales o altas, debido al desplazamiento del potasio hacia el líquido extracelular por el aumento de la concentración de hidrogeniones en el espacio intracelular. El pH urinario es ácido o alcalino, según sea la naturaleza del trastorno, aunque, en general, los riñones aumentan la eliminación de ácido, basada fundamentalmente en el aumento de la eliminación de ión amonio, ya que la eliminación de acidez titulable depende de la cantidad de tampones urinarios (fundamentalmente fosfato) y eso apenas varía. Un punto clave en el diagnóstico de laboratorio de las causas de acidosis es el aumento o no de la concentración de cloruro en el plasma. Cuando hay acidosis sin que aumente el cloruro en el plasma, es que han aumentado otros ácidos no volátiles (acetoacetato, β-hidroxibutirato, etc.) que normalmente no se determinan en el laboratorio, y a los que por lo tanto se denomina anión innominado. Por lo tanto, las acidosis metabólicas pueden clasificarse en aquellas que tienen un anión innominado normal (acidosis hiperclorémicas) o acidosis con aumento del anión innominado **(Tabla 1)**.

3.2.2.1. Acidosis metabólica hiperclorémica

Las causas generales de acidosis hiperclorémica están generalmente relacionadas con:

1. Pérdida de bicarbonato por los riñones.

2. Pérdida de bicarbonato por el tracto gastrointestinal.

3. Adición al líquido extracelular de sustancias con un alto contenido en cloruro (cloruro sódico, clorhidrato de arginina o cloruro amónico).

Estas causas se detallan en la **Tabla 3**.

La pérdida renal de bicarbonato puede deberse a alteraciones de la función renal (acidosis tubular renal, ATR) o al efecto de fármacos (inhibidores de la anhidrasa carbónica). La acidosis tubular renal se basa en un defecto del riñón para secretar adecuadamente hidrogeniones, en ausencia de insuficiencia renal grave. Hay dos tipos principales, pero con combinaciones e híbridos entre ambas: la acidosis tubular renal distal, o clásica, y la acidosis tubular proximal.

La acidosis tubular distal se caracteriza por la incapacidad de las células tubulares del túbulo distal y colector para generar el gradiente de hidrogeniones que existe normalmente en esta parte del túbulo ante una situación de acidosis, que ya se ha visto que es de unas 800-900 veces mayor que el plasma, lo que representa un pH de 4,5. Los pacientes con esta enfermedad presentan orinas con pH no inferior a 6, con independencia de cuál sea la intensidad de la acidosis sistémica, lo que limita mucho la capacidad renal de excretar hidrogeniones como ión amonio. La razón de esta incapacidad de transporte causante de esta acidosis es variada:

a) Alteraciones genéticas en la bomba de hidrogeniones, que es la encargada de secretar activamente hidrogeniones contra un alto gradiente en el túbulo distal y colector, por lo que su función queda anulada o muy reducida.

b) Nefrocalcinosis por causas genéticas o metabólicas (hipertiroidismo o hiperparatiroidismo).

c) Daños tóxicos en las células epiteliales tubulares distales, inducidos, entre otros, por anfotericina B, vitamina D, o tolueno.

d) Otras enfermedades renales (riñón esponjoso medular, pielonefritis, trastornos del colágeno).

Una consecuencia de este hecho es que, al ser la orina alcalina, hay un aumento obligado de secreción de aniones como calcio y potasio, lo que disminuye su cantidad en plasma y puede producir defectos en la mineralización y el crecimiento óseo, como raquitismo y osteomalacia.

El trastorno puede corregirse mediante administración de bicarbonato sódico, aunque, como no es mucha la pérdida del mismo, no son necesarias grandes cantidades.

La acidosis tubular proximal se caracteriza por que en las partes proximales de la nefrona no se produce la adecuada reabsorción de bicarbonato porque la secreción de hidrogeniones es baja. Por ello, la cantidad de bicarbonato que llega a la nefrona distal sobrepasa la capacidad de ésta para reabsorberlo, y se elimina una orina alcalina produciéndose acidosis hiperclorémica. Cuando la concentración plasmática de bicarbonato baja mucho en plasma y, por lo tanto, baja su filtración glomerular, la nefrona distal puede ser capaz de reabsorber la pequeña cantidad que le llega, y la orina es ácida (pH de hasta 4,7), lo que indica que el mecanismo secretor de iones hidrógeno en la porción tubular distal funciona adecuadamente.

La causa es una alteración del funcionamiento del contratransportador Na^+-H^+ exclusivamente (por causas genéticas o por efecto de fármacos

Tabla 3. CAUSAS DE LAS ACIDOSIS METABÓLICAS HIPERCLORÉMICAS

Pérdida renal de bicarbonato

- **Acidosis tubular renal**
  - Acidosis tubular distal
    - i) Alteraciones genéticas en la bomba de hidrogeniones
    - ii) Nefrocalcinosis por causas genéticas o metabólicas (hipertiroidismo o hiperparatiroidismo)
    - iii) Daños tóxicos en las células epiteliales tubulares distales.
    - iv) Otras enfermedades renales (riñón esponjoso medular, pielonefritis, trastornos del colágeno)
- **Acidosis tubular proximal**
  - Alteraciones genéticas del contratransportador Na^+-H^+
  - Alteraciones funcionales del contratransportador Na^+-H^+ (sulfamidas)
  - Defectos generalizados del transporte próximal
    - i) Causas genéticas (síndrome de Fanconi, cistinosis, enfermedad de Wilson, síndrome de Lowe, intolerancia hereditaria a la fructosa)
    - ii) Daño tóxico del epitelio tubular proximal (intoxicación por cadmio, por tetraciclinas degradadas)
    - iii) Proteinuria masiva (síndrome nefrótico, mieloma múltiple) o deficiencia de vitamina D
  - Utilización de inhibidores de la anhidrasa carbónica

Pérdida gastrointestinal de bicarbonato

Administración de sustancias con alto contenido en cloruro

como las sulfamidas) o en asociación con defectos generalizados del transporte proximal, debido a causas genéticas (síndrome de Fanconi, cistinosis, enfermedad de Wilson, síndrome de Lowe, intolerancia hereditaria a la fructosa) o a daño tóxico del epitelio tubular proximal (intoxicación por cadmio, por tetraciclinas degradadas). Otras causas menores son proteinuria masiva (síndrome nefrótico, mieloma múltiple) o deficiencia de vitamina D.

La pérdida de bicarbonato obliga a la eliminación de grandes cantidades de sodio para mantener la electroneutralidad de la orina. Eso hace que disminuya el volumen extracelular y aumente la secreción de aldosterona por la corteza suprarrenal. La aldosterona, en presencia de cantidades elevadas de sodio en el túbulo distal, incrementa el intercambio de sodio por potasio, por lo que se produce una pérdida masiva de potasio que provoca hipopotasemia. También se produce una desmineralización del esqueleto, similar a la que se produce en la acidosis tubular distal clásica.

En las acidosis tubulares proximales, la administración de bicarbonato no da ningún resultado, pues lo único que consigue es aumentar la excreción urinaria del mismo.

También se produce acidosis metabólica hiperclorémica por una utilización excesiva de diuréticos inhibidores de la anhidrasa carbónica. Como se ha visto anteriormente, la anhidrasa carbónica es una enzima necesaria para la generación intracelular de hidrogeniones y para la adecuada transformación del ácido carbónico en CO_2 y agua en la luz del túbulo proximal. Hay una clase de fármacos diuréticos, cuyo efecto se basa en

Tabla 4. CAUSAS DE LAS ACIDOSIS METABÓLICAS NO HIPERCLORÉMICAS

- **Aumento de producción de ácido no volátil**
  - Diabetes mellitus
  - Aciduria metilmalónica
  - Deficiencia de propionil-CoA-carboxilasa
- **Aumento de producción de ácido láctico (acidosis láctica)**
  - Hipoxia tisular
  - Ejercicio muscular excesivo
  - Administración del hipoglucemiante oral fenformina
  - Otras patologías asociadas a glucólisis anaeróbica (diabetes, leucemia, deficiencia hereditaria de fructosa-1,6-bisfosfatasa, cirrosis y pancreatitis)
- **Aumento de producción de sulfatos ácidos (administración excesiva de metionina)**
- **Aumento de otros ácidos (intoxicación por metanol, paraaldehído o salicilatos)**
- **Disminución de la eliminación de ácidos no volátiles por insuficiencia renal**

la inhibición de esta enzima, lo que tiene como consecuencia la pérdida de grandes cantidades de bicarbonato en la orina, y la consecuente acidosis metabólica.

Otra causa de acidosis hiperclorémica es la pérdida gastrointestinal de bicarbonato. Ésta puede estar causada por diarreas masivas o por la pérdida al exterior de la secreción biliar o pancreática.

Con respecto a la primera causa, el aumento de secreciones intestinales, de naturaleza alcalina por su alto contenido en bicarbonato, debido a la irritación de las paredes intestinales, y su eliminación rápida al exterior a causa de la hipermotilidad intestinal, hace que se pierdan grandes cantidades de bicarbonato y, como consecuencia, una acidosis metabólica, que suele ser muy grave en lactantes. Asimismo, en cirugía reparativa se producen en muchas ocasiones soluciones que exigen el drenaje al exterior de las secreciones biliares y pancreáticas, ambas muy ricas en bicarbonato (60-120 mEq/l), lo que produce una intensa acidosis metabólica.

La acidosis metabólica hiperclorémica puede ser originada también por la administración de sustancias con alto contenido en cloruro. Cuando las posibles disminuciones del volumen extracelular se intentan compensar con una solución de cloruro sódico isotónico (9 g/l), se produce una ligera acidosis hiperclorémica con disminución ligera también del bicarbonato plasmático. Esto se debe a que este tipo de soluciones (mal llamadas suero fisiológico) son de un pH ácido y contienen bastante más cloruro (150 mEq/l) que el plasma (102 mEq/l), por lo que tienen poco de "fisiológicas". Algo similar ocurre cuando se administra cloruro amónico, o clorhidrato de lisina o de arginina en cantidades sustanciales.

La corrección de este tipo de acidosis metabólicas se basa, además de en la adecuada administración de líquidos para compensar las pérdidas de fluido, en la administración de bicarbonato sódico por vía oral. En el caso de que la acidosis sea muy grave, se puede administrar bicarbonato sódico intravenoso, aunque es más conveniente la administración de lactato o gluconato sódico. Ambos se transforman en el hígado en bicarbonato sódico, que corrige la acidosis como antes se ha descrito.

3.2.2.2. Acidosis metabólica sin hipercloremia (con aumento del anión innominado)

Este tipo de acidosis en las que aumentan los niveles plasmáticos de ácidos no volátiles distintos al cloruro se debe, o bien a un aumento de producción de los mismos, o bien a un defecto de su eliminación. Sus causas se sistematizan en la **Tabla 4**.

Un grupo de causas de acidosis metabólica no hiperclorémica se basa en el aumento de producción de ácido no volátil. Esto ocurre, por ejemplo, en el caso de la diabetes mellitus, en la que la falta de insulina hace que no se degrade adecuadamente la glucosa, y que los ácidos grasos se degraden a β-hidroxibutitrato y acetoacetato, ácidos cuyas concentraciones aumentan mucho en el líquido extracelular produciendo acidosis grave. La corrección de este tipo de acidosis se basa en la dosificación adecuada de la insulina, y la administración de bicarbonato sódico, como se ha descrito más arriba. Trastornos similares ocurren durante el ayuno prolongado o la hipoglucemia crónica, o la intoxicación por etanol. Asimismo, en dos trastornos genéticos metabólicos: la aciduria metilmalónica y la deficiencia de propionil-CoA-carboxilasa, hay aumento de niveles plasmáticos de cuerpos cetónicos, con su correspondiente acidosis metabólica.

En ciertos trastornos que cursan con hipoxia tisular, durante el ejercicio muscular excesivo, tras la administración del hipoglucemiante oral fenformina y en otras patologías como diabetes, leucemia, deficiencia hereditaria de fructosa-1,6-bisfosfatasa, cirrosis y pancreatitis, la oxidación de la glucosa se realiza, al menos en parte, de forma anaerobia e incompleta, de forma que el producto final es ácido láctico, que se acumula en plasma produciendo acidosis metabólica (acidosis láctica).

La administración de grandes cantidades de metionina produce en su metabolismo la liberación de sulfatos ácidos, lo que se asocia a una acidosis, con reducción del CO_2 plasmático, acidificación urinaria máxima y aumento de la eliminación de ión amonio. Asimismo, la intoxicación por metanol, paraaldehído o salicilatos conlleva la producción de ácidos orgánicos en grandes cantidades, y la subsiguiente acidosis metabólica.

Un segundo grupo de causas de acidosis metabólica sin hipercloremia se basa en la disminución de la eliminación de ácidos no volátiles debida a insuficiencia renal crónica y severa. Cuando la capacidad del riñón para excretar hidrogeniones, debido a la disminución de su función, desciende por debajo de la producción metabólica de ácidos, se produce también acidosis metabólica. La corrección de este tipo de acidosis se hace por administración de bicarbonato o, cuando la función renal disminuye por debajo de unos ciertos límites, por técnicas sustitutorias de la función renal como son la hemodiálisis, la diálisis peritoneal y el trasplante renal.

3.3. Alcalosis

3.3.1. Alcalosis respiratoria

La alcalosis respiratoria se caracteriza por una disminución en la PCO_2 y, a veces, por una ligero aumento del pH plasmático. Este trastorno refleja un desequilibrio entre la tasa de formación y de eliminación de CO_2, casi siempre causada por un aumento de esta última, como consecuencia de la hiperventilación alveolar, y el consiguiente aumento de excreción de CO_2, ya que la tasa de producción de CO_2 se modifica poco y es fácilmente compensada por una función pulmonar normal. A medida que disminuye la PCO_2, disminuye la cantidad de CO_2 disuelto, lo que favorece la disminución de la concentración de ácido carbónico y, por lo tanto, de hidrogeniones libres en los líquidos extracelulares. Esto hace que salgan hidrogeniones de los líquidos extracelulares, lo que, reaccionando con el bicarbonato plasmático, según la reacción:

$$H^+ + CO_2\ H^- \rightarrow CO_2 + H_2O$$

hace que disminuya también la concentración de bicarbonato en el plasma; de acuerdo con la ecuación de Henderson-Hasselbalch, esto impide cambios bruscos del pH del líquido extracelular. Sin embargo, la disminución del bicarbonato plasmático nunca suele ser muy importante, por lo que el pH tiende a elevarse.

A medida que el pH intracelular aumenta, las células tubulares disminuyen su secreción de iones hidrógeno, lo que produce excreción tubular de bicarbonato e impide la generación de nuevo bicarbonato, lo que tiende a restaurar el pH plasmático a niveles normales. Asimismo, se reduce, al menos temporalmente, la eliminación de iones amonio, lo que puede conllevar un aumento en la eliminación de sodio o potasio con el fin de mantener la electroneutralidad de la orina.

Los datos de laboratorio que caracterizan la alcalosis respiratoria **(Tabla 5)** son, por lo tanto, una disminución de la PCO_2, y una disminución del bicarbonato, que pocas veces baja por debajo de los 15 mEq/l en la alcalosis respiratoria aguda. Valo-

Tabla 5. DIAGNÓSTICO DE LAS ALCALOSIS

Bicarbonato alto: alcalosis metabólica

- **Cloruro alto (< 30 mEq/l): expansión de volumen y exceso de mineralocorticoides**
  - Aldosterona elevada, glucocorticoides normales: *hiperaldosteronismo*
    - i) Renina baja: hiperaldosteronismo primario
    - ii) Renina alta: hiperaldosteronismo secundario
  - Renina y aldosterona bajas, glucocorticoides altos: síndrome de Cushing
  - Aldosterona y glucocorticoides normales: excesiva ingestión de regaliz
  - Aldosterona y renina bajas. Síndrome de Liddle
- **Cloruro bajo (< 10 mEq/l): contracción de volumen y exceso de mineralocorticoides**
  - Pérdida gastrointestinal de hidrogeniones
    - i) Vómitos
    - ii) Adenoma velloso de colon
    - iii) Diarrea con elevado cloruro
  - Pérdida renal de hidrogeniones
  - Otras causas
    - i) Síndrome de Bartter
    - ii) Fibrosis quística
- **Cloruro normal (20-30 mEq/l). Carga excesiva de bicarbonato**
  - Ingestión excesiva de bicarbonato o álcalis
  - Administración de ácidos orgánicos que se convierten en bicarbonato
  - Alcalosis inducida por la glucosa durante el ayuno
  - Estado poshipercápnico

Bicarbonato bajo y PCO_2 baja: alcalosis respiratoria

- **Ventilación asistida: alcalosis respiratoria yatrogénica**
- **Respiración espontánea**
  - Insuficiencia funcional de otros órganos
    - i) Insuficiencia hepática, cirrosis, coma hepático
    - ii) Insuficiencia cardiaca congestiva
  - Intoxicación (salicilatos, etanol)
  - Fiebre o ejercicio intenso
  - Síndrome de hiperventilación

res mantenidos por debajo de los 18 mEq/l deben hacer pensar más bien en una acidosis metabólica. El resto de los electrólitos del suero se mantienen normales si no hay otra patología acompañante. A veces se observa un aumento de los niveles de ácido láctico y pirúvico, en lo que parece ser un efecto compensador de la disminución del ácido carbónico, lo que puede confundir el diagnóstico con las acidosis metabólicas con aumento del anión innominado, con las que comparten también la disminución del bicarbonato. El pH urinario no suele ser de utilidad diagnóstica, ya que suele ser ácido, con disminución, al menos temporal, de la excreción de ión amonio.

3.3.1.1. Causas de la alcalosis respiratoria

La hiperventilación responsable de la alcalosis respiratoria puede ser debida a dos procesos principales:

a) Aumento de la estimulación neuroquímica de la respiración a través de los centros respiratorios.

Tabla 6. CAUSAS DE LAS ALCALOSIS METABÓLICAS

- **Exceso de mineralocorticoides y expansión de volumen**
  - Aldosteronismo primario o secundario
  - Síndrome de Cushing
  - Excesiva ingestión de regaliz
  - Síndrome de Liddle
  - Déficit de potasio
- **Contracción de volumen y exceso de mineralocorticoides**
  - Pérdida gastrointestinal de hidrogeniones
  - Pérdida renal de hidrogeniones
  - Síndrome de Bartter
  - Fibrosis quística
- **Carga excesiva de bicarbonato**
  - Ingestión excesiva de bicarbonato o álcalis
  - Administración de ácidos orgánicos que se convierten en bicarbonato
  - Estado poshipercápnico

b) Hiperventilación producida por la ventilación mecánica o asistida.

Entre los primeros, destaca por su importancia y trascendencia el coma hepático, en el que la alcalosis respiratoria es típica, aunque pueda coexistir con otros trastornos del equilibrio ácido-base. Entre las causas, que son múltiples, parecen jugar un papel fundamental el aumento de la circulación de cortocircuito pulmonar, la hiponatremia y el aumento de los niveles plasmáticos de amonio. También hay hiperventilación en la fase aguda de la intoxicación por salicilatos, seguida luego por una acidosis metabólica. Probablemente, la causa radique en el metabolismo de los salicilatos a ácidos orgánicos. Algo similar ocurre en la intoxicación etanólica aguda.

La hiperventilación del ejercicio o de la fiebre también es una causa de alcalosis respiratoria, probablemente basada en un estimulación directa de los centros respiratorios superiores a través de impulsos generados en el centro de control cardiovascular en el primer caso, y en el centro termorregulador en el segundo. Existe un síndrome de hiperventilación caracterizado por múltiples alteraciones neuromusculares y conductuales, cuyas causas concretas no se conocen.

3.3.1.2. Tratamiento de la alcalosis respiratoria

La alcalosis respiratoria suele ser leve, y sólo raramente necesita la administración de pequeñas cantidades de bicarbonato sódico para prevenir la acidosis que pueda producirse por la compensación con aumento de los niveles de CO_2. Sólo en los pacientes con hiperventilación y síntomas (tetania, síncopes), pueden aliviarse éstos haciendo que los pacientes respiren repetidamente el aire de una bolsa de papel o plástico, lo que hace aumentar la PCO_2 del aire inspirado.

3.3.2. Alcalosis metabólica

Se produce alcalosis metabólica cuando la pérdida neta de hidrogeniones del espacio extracelular excede a su entrada en él, o cuando el aporte de álcalis excede a su eliminación.

El signo fundamental de la alcalosis metabólica es un aumento del pH de la sangre, con un aumento primario de la excreción de bicarbonato y, compensatoriamente, un aumento de la PCO_2 por hipoventilación **(Tabla 6)**. Sin embargo, en muy contadas ocasiones ésta supera los 50 mmHg. Esto

se debe a que la hipoventilación alveolar necesaria para elevar la PCO_2 también reduciría la PO_2, lo que estimularía los quimiorreceptores y aumentaría la ventilación.

En el suero de los pacientes con alcalosis metabólica hay una elevada PCO_2, hipocloremia y casi siempre hipokaliemia. Esta hipokaliemia está basada casi siempre en la pérdida renal de potasio por aumento de la secreción distal. Inicialmente, están aumentadas tanto la secreción de potasio como la de hidrogeniones, pero, a medida que disminuye la concentración intracelular de potasio, la secreción de potasio va disminuyendo. Hay aumento de anión innominado, pero no tiene valor diagnóstico. El pH urinario puede ser alcalino o ácido (aciduria paradójica).

La concentración de cloruro en la orina es variable y tiene utilidad diagnóstica. Si la concentración en la orina es elevada (> 50 mEq/l), significa que el volumen extracelular está aumentado, casi siempre debido a trastornos de la glándula suprarrenal, mientras que si el cloruro urinario es bajo (< 10 mEq/l) significa que la alcalosis está asociada a la pérdida de líquido por vómitos o empleo de diuréticos y, por lo tanto, el riñón reabsorbe ávidamente Na y cloruro.

Las causas de alcalosis metabólicas pueden dividirse en tres grandes grupos **(Tabla 6)**. El primero está caracterizado por aumento del volumen extracelular causado por un exceso de mineralocorticoides. En este grupo de pacientes casi siempre hay también hipertensión. El segundo grupo de causas está basada en la pérdida de hidrogeniones y de volumen extracelular y, como consecuencia, un exceso de mineralocorticoides. El tercer grupo de causas está basado en un aumento del bicarbonato plasmático.

3.3.2.1. Alcalosis metabólica por exceso de mineralocorticoides y expansión de volumen

Cuando las glándulas suprarrenales, debido a un tumor, secretan cantidades excesivas de aldosterona (hiperaldosteronismo primario) o cuando hay estenosis de la arteria renal, daño vascular intrarrenal o un tumor productor de renina, se producen cantidades excesivas de esta enzima que, a su vez, mediante una cascada de reacciones, da lugar a la hormona angiotensina II, que es un potente estimulador de la secreción de aldosterona (hiperaldosteronismo secundario); se produce aumento del fluido extracelular y alcalosis metabólica. La causa de la alcalosis es que la aldosterona promueve la resorción de sodio en el túbulo distal y colector, lo que aumenta la secreción de potasio e hidrogeniones y, por lo tanto, disminuye su concentración plasmática. La corrección se hace mediante la corrección del volumen extracelular, y mediante la normalización de la función suprarrenal.

El síndrome de Cushing es debido a la administración exógena de hidrocortisona o de ACTH o a la existencia de adenomas adrenales o déficit metabólicos (deficiencia de 11 hidroxilasa o de 17-α-hidroxilasa), que producen una excesiva secreción de glucocorticoides, que también tienen efecto mineralocorticoide. Estos pacientes tienen alcalosis hipocaliémica, hipertensión, y renina y aldosterona bajas.

El principio activo del regaliz, el ácido glicirrínico, se parece a la aldosterona en su estructura y tiene cierta actividad mineralocorticoide, por lo que su ingestión excesiva en pacientes predispuestos provoca una alcalosis metabólica con un síndrome parecido al hiperaldosteronismo, pero con niveles bajos de aldosterona.

En el síndrome de Liddle hay un incremento intrínseco de la reabsorción distal de sodio y de la secreción de potasio e hidrogeniones, en ausencia de aumentos de renina o aldosterona, por lo que se asemeja a un hiperaldosteronismo.

Cuando hay un déficit generalizado y crónico de potasio en el organismo, debido a exceso de pérdida o a disminución de la ingesta, el potasio, que es el mayor catión del líquido extracelular, sale de las células para compensar la disminución plasmática y, debido al equilibrio electroquímico, entran a las células cantidades mayores de hidrogeniones, por lo que disminuye su concentración plasmática. Esto, además, viene agravado por el hecho de que, al ser elevada la concentración intracelular de hidrogeniones, y depender de ella la secreción tubular de los mismos, se excreta una orina ácida a pesar de la alcalosis. La corrección de este tipo de alcalosis no se hace mediante la administración de cloruro amónico (cuanto más ácido se administra, más ácido se elimina por la orina), sino que se hace mediante la administración cuidadosa de cloruro potásico con el fin de corregir el balance de potasio del organismo.

3.3.2.2. Alcalosis metabólica por contracción de volumen y exceso de mineralocorticoides

Las secreciones gástricas son muy ácidas debido a la gran secreción de ácido clorhídrico por parte de las células de la pared del estómago. Por eso, los vómitos repetidos o la eliminación del contenido gástrico llevan consigo la pérdida de una gran cantidad de hidrogeniones y, por lo tanto, la disminución de su concentración plasmática. Algo similar ocurre en pacientes con adenoma velloso de colon o con el síndrome de alcalosis congénita con diarrea, en los se que producen diarreas con elevado contenido en cloruro y en ácidos. El tratamiento consiste en la administración de cloruro de amonio, que en el hígado se convierte en urea y ácido clorhídrico, que corrige la alcalosis.

El tratamiento con diuréticos produce un déficit de sodio del organismo, que, al causar disminución del volumen extracelular, induce un aumento de secreción de renina y de aldosterona que, por la acción de los diuréticos, no puede compensar la disminución de volumen extracelular y, por lo tanto, se comporta como un hiperaldosteronismo secundario, con bajo volumen extracelular, lo que conduce a un aumento excesivo de la eliminación renal de hidrogeniones.

El síndrome de Bartter es un trastorno genético caracterizado por hiperreninemia e hiperaldosteronismo y elevada síntesis renal de prostaglandinas, lo que hace que se mantenga una elevada excreción renal de sodio y potasio y, por lo tanto, contracción del volumen extracelular y alcalosis hipopotasémica.

La fibrosis quística es un trastorno genético en el que hay una gran pérdida de cloruro sódico en exceso sobre bicarbonato sódico por las glándulas sudoríparas, por lo que a menudo aparece alcalosis metabólica con bajo volumen extracelular.

3.3.2.3. Alcalosis metabólica por carga excesiva de bicarbonato

Si hay una ingesta excesiva de bicarbonato o álcalis en presencia de una disminución de la capacidad renal de excreción de bicarbonato, se produce alcalosis metabólica. Eso ocurre, por ejemplo, en pacientes con úlcera péptica que reciben al mismo tiempo, y de forma crónica, bicarbonato y leche. El aumento de reabsorción intestinal de bicarbonato cálcico produce hipercalciuria y nefrocalcinosis, que puede dar lugar a una insuficiencia renal grave, reducción subsiguiente de la capacidad renal para filtrar bicarbonato y, por lo tanto, alcalosis metabólica. Durante el tratamiento de una acidosis metabólica aguda, la administración de bicarbonato más la conversión de los ácidos orgánicos (lactato, acetoacetato, etc.) en bicarbonato pueden dar lugar a una alcalosis metabólica.

Algo similar ocurre con la alcalosis inducida por la glucosa durante el ayuno, probablemente basada en el aumento, inducido por la glucosa, del metabolismo a bicarbonato de los cuerpos cetónicos producidos durante el ayuno (*ver apartado 2.2.2*).

Otra causa de alcalosis metabólica es la situación poshipercápnica. Cuando la hipercapnia secundaria a una acidosis respiratoria se corrige rápidamente, los riñones retienen bicarbonato como consecuencia de la acidosis, y en presencia de un aumento de la retención renal de sodio (bajo volumen extracelular, edemas) hipercorrigen la situación, provocando aumento del bicarbonato plasmático y, por lo tanto, alcalosis metabólica.

3.3.3. Consecuencias clínicas de la alcalosis

En las situaciones de alcalosis se produce excitabilidad del sistema nervioso, primero del periférico y más tarde del central. Esta hiperexcitabilidad periférica puede producir contracción excesiva y mantenida de los músculos esqueléticos, que se denomina tetania. Si la alcalosis es profunda y mantenida, puede producirse tetania de los músculos respiratorios, lo que produce la muerte por asfixia. La hiperexcitabilidad del sistema nervioso central se manifiesta, en casos leves, como inquietud inexplicable, y en casos graves en personas susceptibles (epilépticos), como convulsiones.

4. Resumen

- Como resultado de los procesos metabólicos oxidativos en el hombre, las células del organismo producen diariamente unas 14 moles de CO_2. También se produce una cantidad menor de ácidos no volátiles como, por ejemplo, ácido láctico, en la oxidación incompleta de los hidratos de carbono, de ácido acetoacético y β-hidroxibutírico, en la oxidación de los lípidos, sobre todo en ausencia de insulina, de ácido sulfúrico, en la oxidación de las proteínas, y de ácido fosfórico, en la degradación de fosfoproteínas, fosfolípidos y ATP. Pequeños cambios en la concentración de hidrogeniones en el líquido extracelular modifican de forma sustancial la velocidad de muchas reacciones químicas catalizadas por enzimas. Por lo tanto, su regulación ha de ser muy fina para poder compensar las cantidades de ácido que, provenientes de la dieta o del metabolismo tisular, se están añadiendo continuamente a los fluidos del organismo. La concentración de hidrogeniones en el líquido extracelular se mantiene en valores de 7,35 expresado como pH [-log (H^+)], mientras que en la sangre arterial el pH es de 7,4. Cuando el pH arterial es inferior a 7,4, se dice que hay una situación de acidosis, mientras que, si es mayor, se dice que hay alcalosis. Para impedir los cambios bruscos en la concentración de hidrogeniones en los fluidos del organismo, existen tres sistemas principales de control:
  a) Sistemas amortiguadores (también conocidos como sistemas tamponadores) existentes en la sangre y en los fluidos corporales intra y extracelulares.
  b) Regulación de la frecuencia e intensidad de la respiración por el centro respiratorio.
  c) Regulación de la excreción de hidrogeniones por el riñón.

- En todos los líquidos corporales, tanto intra como extracelulares, existen concentraciones importantes del par amortiguador carbónico/bicarbonato. Otra característica fundamental de este amortiguador es que el elemento ácido, ácido carbónico, está parcialmente en forma de CO_2, que es un gas, dióxido de carbono, cuya concentración puede ser regulada por el aparato respiratorio. A su vez las concentraciones plasmáticas de CO_2 regulan la función del aparato respiratorio. Los amortiguadores intracelulares más importantes son los proteinatos. Los riñones son capaces de controlar la concentración de hidrogeniones de los líquidos del organismo mediante el ajuste de la excreción urinaria de los mismos, así como mediante el ajuste de la síntesis de bicarbonato. La excreción de más hidrogeniones de los que son producidos reduce su concentración en los líquidos del organismo, mientras que la excreción de menos hidrogeniones que los producidos la aumenta. Tanto la eliminación urinaria de hidrogeniones como la reabsorción de bicarbonato están basadas en la capacidad de las células tubulares renales (excepto el asa de Henle estrecha) para secretar hidrogeniones hacia la luz tubular. En general, cuanto mayor es la concentración de hidrogeniones en el líquido extracelular, mayor es la secreción de hidrogeniones al fluido tubular. La secreción de hidrogeniones hace que se reabsorba el bicarbonato filtrado, de forma que no se pierda por la orina. Además, el riñón es capaz de regenerar el bicarbonato perdido en el plasma por su reacción con los hidrogeniones. Los hidrogeniones son excretados por la orina como sales ácidas de fosfato y sulfato y en forma de ión amonio, lo que permite excretar una gran cantidad de hidrogeniones sin disminuir mucho el pH de la orina. Cualquier factor que modifique la respiración (ventilación o difusión) modifica también la capacidad de eliminación de CO_2 y, por lo tanto, su concentración plasmática. Una disminución de la ventilación induce un aumento de la concentración de CO_2, y por lo tanto, una disminución del pH denominado acidosis respiratoria. Por el contrario, un exceso de ventilación pulmonar produce el exceso contrario, que se denomina alcalosis respiratoria. Un aumento de la producción endógena de ácidos no volátiles o una disminución de la capacidad del organismo para su eliminación induce una disminución del pH, que se denomina acidosis metabólica, mientras que al proceso contrario se le denomina alcalosis metabólica.

5. Bibliografía

Castro del Pozo S. Fisiopatología del equilibrio ácido-base. En: Castro Del Pozo S. Manual de Patología General, 5ª ed. Masson-Salvat. Barcelona, 1993: 457-62.
Descripción muy asequible de las alteraciones del equilibrio ácido-base.

Koeppen BM, Stanton BA. Función del riñón en el equilibrio ácido-básico. En: Fisiología. Harcourt. Madrid, 2000: 469-78.
Capítulo que expone de forma breve y sencilla la regulación renal del pH del líquido extracelular.

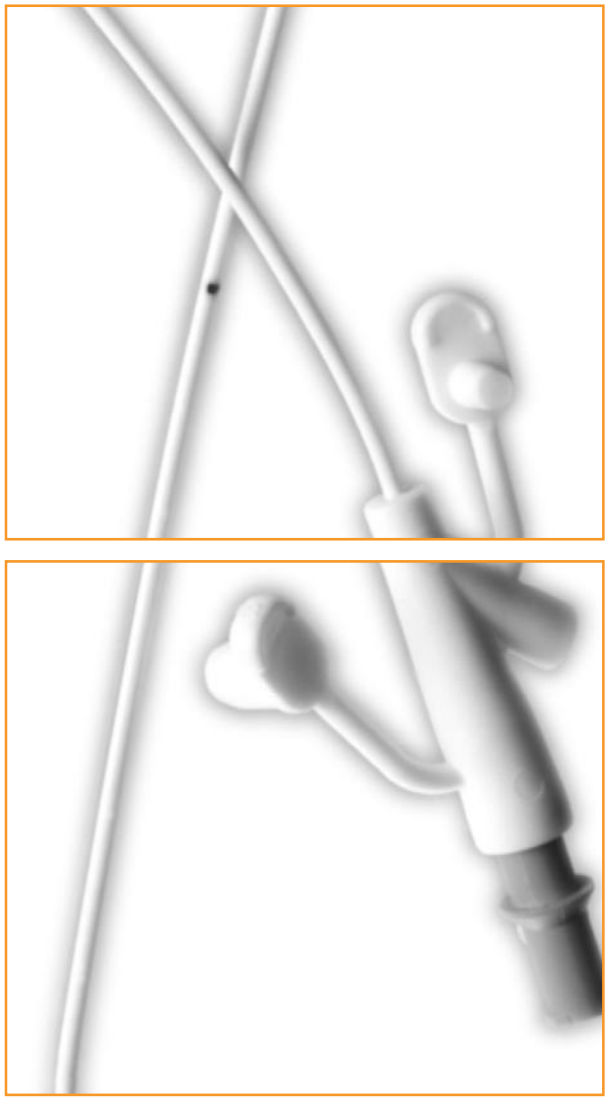
López-Novoa JM. Alteraciones del equilibrio ácido-base. En: Esteller A, Cordero M. Fundamentos de Fisiopatología. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 1998: 387-402.
Capítulo que explica de forma detallada las causas de las diversas alteraciones del equilibrio ácido-base.

López Novoa JM, Pérez Barriocanal F. Mecanismos de acidificación de la orina. En: Fisiología Humana, 2ª ed. Fernández-Tresguerres JA (ed.). McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 1999: 431-8.
En este capítulo se repasan de forma actualizada los mecanismos renales de control del equilibrio ácido-base.

Roos A, Boron WF. Intracellular pH. Physiol Rev 1981; 61: 296-434.
Es una revisión muy detallada de la regulación intracelular del pH.

Tejedor A. Trastornos del equilibrio ácido-base. En: Hernando L. Nefrología Cínica, 2ª ed. Panamericana. Madrid, 2003: 66-90.
Capítulo que revisa de forma muy actualizada la regulación del equilibrio ácido-base y sus patologías fundamentales.

Valtin H, Gennari FG. Acid-Base Disorders: Basic Concepts and Clinical Management. Little, Brown. Boston, 1987.
Un libro dedicado enteramente a la descripción de la fisiología del equilibrio ácido-base y de sus complicaciones.



6. Enlaces web

- www.qldanaesthesia.com/AcidBaseBook
- www3.us.elsevierhealth.com/MERLIN/BandB/supplements/Chapter_27.html
- rcm-medicine.upr.clu.edu/physiology/acid-base.htm
- gasnet.med.yale.edu/acid-base
- www.gasnet.org/acid-base/ab_physiology.html
- umed.med.utah.edu/ms2/renal/Word%20files/h)%20Acid_Base%20Physiology.htm
- gucfm.georgetown.edu/welchjj/netscut/acid_base/Acid_Base_Physiology.html
- rcm-medicine.upr.clu.edu/physiology/acid-base.htm

1.27. Calcio, fósforo, magnesio y flúor. Metabolismo óseo y su regulación

Francisca Pérez Llamas ■ Marta Garaulet Aza ■
Ángel Gil Hernández ■ Salvador Zamora Navarro

Capítulo 1.27.

Calcio, fósforo, magnesio y flúor. Metabolismo óseo y su regulación

1. Introducción

2. Calcio
2.1. Contenido y localización en el organismo
2.2. Funciones en el organismo
2.3. Absorción, metabolismo y excreción
2.4. Ingestas recomendadas y fuentes alimentarias
2.5. Carencia: causas y efectos
2.6. Exceso: causas y efectos

3. Fósforo
3.1. Contenido y localización en el organismo
3.2. Funciones en el organismo
3.3. Absorción, metabolismo y excreción
3.4. Ingestas recomendadas y fuentes alimentarias
3.5. Carencia: causas y efectos
3.6. Exceso: causas y efectos

4. Magnesio
4.1. Contenido y localización en el organismo
4.2. Funciones en el organismo
4.3. Absorción, metabolismo y excreción
4.4. Ingestas recomendadas y fuentes alimentarias
4.5. Carencia: causas y efectos
4.6. Exceso: causas y efectos

5. Flúor
5.1. Contenido y localización en el organismo
5.2. Funciones en el organismo
5.3. Absorción, metabolismo y excreción
5.4. Ingestas recomendadas y fuentes alimentarias
5.5. Carencia: causas y efectos
5.6. Exceso: causas y efectos

6. El tejido óseo: composición y estructura
6.1. Matriz orgánica del hueso

6.2. Matriz inorgánica del hueso
6.3. Componentes celulares del hueso
6.3.1. Osteoblastos
6.3.2. Osteoclastos

7. Metabolismo del tejido óseo
7.1. Formación ósea
7.2. Mineralización de la matriz orgánica u osteoide
7.3. Modelado y remodelado óseos

8. Regulación del metabolismo óseo
8.1. Regulación endocrina del metabolismo óseo
8.1.1. Hormona paratiroidea
8.1.2. Calcitonina
8.1.3. Vitamina D activa [$1,25(OH)_2D_3$]
8.1.4. Otras hormonas
8.2. Regulación génica del metabolismo óseo
8.2.1. Regulación de la síntesis y función de los osteoblastos
8.2.2. Regulación de la síntesis y función de los osteoclastos

9. Resumen

10. Bibliografía

11. Enlaces web

Objetivos

- Conocer el contenido y la localización del calcio, fósforo, magnesio y flúor en el organismo.
- Revisar los procesos de absorción, metabolismo y excreción de estos elementos minerales.
- Valorar los posibles efectos adversos de la ingesta deficiente (enfermedades carenciales) o excesiva (toxicidad) de estos elementos minerales en el organismo.
- Diferenciar las principales vías de regulación del equilibrio dinámico de la calcemia y la fosfatemia.
- Reconocer las mejores fuentes alimentarias de calcio, fósforo, magnesio y flúor.
- Conocer el papel de las principales hormonas sistémicas en la regulación del metabolismo óseo.
- Conocer las cantidades diarias recomendadas de calcio, fósforo, magnesio y flúor para la población española.
- Valorar la complejidad de la regulación génica del metabolismo óseo.
- Diferenciar los distintos tipos celulares del hueso y sus funciones en la formación, mineralización, modelación y remodelación óseas.
- Valorar las necesidades de estos minerales en el organismo y las formas en que se pueden cubrir dichas demandas.

1. Introducción

En los seres vivos existe un gran número de cationes y aniones que forman parte del conjunto de minerales del organismo y participan en un elevado número de funciones biológicas. Entre éstos, se encuentran: calcio, magnesio, fosfato y fluoruro, que se pueden localizar tanto en el espacio extracelular como en el interior de las células, libres (ionizados), como sales minerales, y formando parte de estructuras y compuestos orgánicos más o menos complejos. Estos cuatro minerales desempeñan importantes funciones estructurales y metabólicas en el organismo y, dado que son elementos exógenos al organismo, hay que obtenerlos necesariamente a partir de los alimentos. De ahí la importancia de establecer y conocer los requerimientos y recomendaciones de estos micronutrientes para cada grupo de población. Todos ellos presentan en común su localización, ya que mayoritariamente forman parte de los tejidos mineralizados, del esqueleto y de los dientes.

Existe un complejo y preciso sistema de regulación que controla la concentración del calcio, entre unos márgenes muy estrechos, tanto en el medio extracelular (calcemia) como en el intracelular. Esta precisa regulación, llevada a cabo por el sistema endocrino, permite el equilibrio dinámico del catión entre los distintos compartimentos corporales, de forma que el calcio disuelto del medio extracelular y parte del que se encuentra en el hueso son intercambiables (unos 500 mg de calcio entran y salen de los huesos diariamente). La concentración plasmática de fosfato también se encuentra regulada, al igual que la de los restantes iones, pero no de una forma tan precisa.

Las principales hormonas sistémicas que regulan el equilibrio dinámico del calcio entre los diferentes compartimentos corporales, y al mismo tiempo modulan las actividades de formación y remodelación ósea, son: hormona paratiroidea, calcitonina y vitamina D. Todas ellas participan en el mantenimiento de la constancia de la concentración plasmática de calcio; para ello, no sólo ejercen su acción sobre el hueso, sino también sobre el intestino y el riñón. Existen también otras hormonas que participan, en menor medida, en la regulación del metabolismo óseo y en la homeostasis de calcio y fosfato: glucocorticoides, péptido relacionado con la PTH (PTHpr), péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), estrógenos, prolactina, insulina, hormonas tiroideas, hormona del crecimiento (GH), factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I) y otros factores de crecimiento.

El hueso es un tejido conectivo mineralizado, de composición heterogénea y estructura compleja, muy dinámico y vascularizado, que desempeña una función estructural, de protección y de depósito mineral. En él se pueden diferenciar los siguientes componentes: una matriz orgánica, constituida mayoritariamente por colágeno de tipo I y proteínas no colágenas, una matriz inorgánica, formada fundamentalmente por cristales de calcio y fosfato (hidroxiapatita), y el componente celular, osteoblastos, osteocitos y osteoclastos, que son los responsables de la formación, mineralización, modelación y remodelación óseas. La regulación de la síntesis, metabolismo y apoptosis de estas células está bajo el control de numerosos factores endocrinos, paracrinos y autocrinos.

El conocimiento de las bases moleculares y celulares de la formación, mineralización, modelación y remodelación óseas, y de los principales factores génicos implicados en la regulación local de estos procesos será fundamental para la prevención y el tratamiento de diferentes enfermedades óseas.

2. Calcio

2.1. Contenido y localización en el organismo

El calcio es el catión más abundante en el organismo (1.200-1.500 g), representando el 1,5-2% del peso total del cuerpo. La mayor parte del calcio corporal se encuentra en el tejido óseo y en los dientes (99,1%), formando parte de su estructura junto con el fosfato en una proporción de 1,5:1, y el restante 0,9% se encuentra disuelto en el líquido extracelular (0,4%) y en los tejidos blandos del organismo (0,5%), donde regula y participa en multitud de reacciones metabólicas. Existe un equilibrio dinámico de este catión entre los distintos compartimentos corporales, de forma que el calcio disuelto del medio extracelular y parte del que se encuentra en el hueso son intercambiables, unos 500 mg de calcio entran y salen de los huesos diariamente. El hueso puede actuar como reservorio de calcio y cederlo si la concentración de este catión en la sangre disminuye por debajo del rango de normalidad (hipocalcemia), que es de 9,0-10,2 mg/dl (2,3-2,6 mM).

En el hueso, el calcio está formando parte de dos tipos de depósitos. Un pequeño depósito de calcio intercambiable, de unos 10 g, de fácil y rápida movilización, y otro depósito de calcio más estable, muy poco intercambiable, que representa el 99% del calcio óseo total. Por el contrario, el calcio total que forma parte de la estructura del diente no es intercambiable. En el líquido extracelular, el 50% del calcio está ionizado y, por tanto, en la forma fisiológicamente activa, el 40% se encuentra unido a proteínas plasmáticas (calcio no difusible), mayoritariamente a albúmina y globulinas, y el restante 10% del calcio plasmático se encuentra formando complejos con aniones orgánicos e inorgánicos, sobre todo con citrato y fosfato.

2.2. Funciones en el organismo

El calcio cumple numerosas e importantísimas funciones en el organismo; de ahí que se encuentre plenamente justificada la existencia de un complejo y preciso sistema de regulación al que se ve sometido este catión, tanto en el medio extracelular (calcemia) como en el intracelular. El calcio es el principal mineral que participa en la integridad estructural del organismo, pero además de este fundamental papel en la formación y mantenimiento de los huesos y dientes, es esencial en numerosos procesos metabólicos que ocurren en todas las restantes células del organismo.

Este elemento mineral es esencial para la transmisión del impulso nervioso, la excitabilidad neuronal y la formación de neurotransmisores, para el adecuado funcionamiento del músculo cardiaco, el mantenimiento del tono del músculo esquelético y la contracción del músculo liso. También es necesario para los procesos de coagulación sanguínea, donde los iones de calcio inician la formación de un coágulo sanguíneo al estimular la liberación de tromboplastina por las plaquetas, y actúa como cofactor en la reacción de transformación de protrombina en trombina, lo que ayuda a la polimerización del fibrinógeno y a la formación de fibrina.

Asimismo, actúa como segundo mensajero y participa en la regulación de los mecanismos de transporte en las membranas celulares e intracelulares, en la secreción de jugos y hormonas, y en la liberación y activación de numerosas actividades enzimáticas intracelulares y extracelulares, en la mitosis y en la fecundación.

2.3. Absorción, metabolismo y excreción

En la **Figura 1** se representa el balance diario y la localización del calcio en el individuo adulto.

La absorción intestinal del calcio dietético puede oscilar entre el 25 y el 75%, dependiendo de la edad del individuo, de la cantidad ingerida, de la presencia de diversos factores dietéticos que facilitan (lactosa, ciertos aminoácidos) o dificultan (oxalatos y fitatos) su absorción, y de las concentraciones plasmáticas de distintas hormonas, como la vitamina D, que interviene facilitando su absorción por el intestino. Además, la realización de ejercicio físico de forma

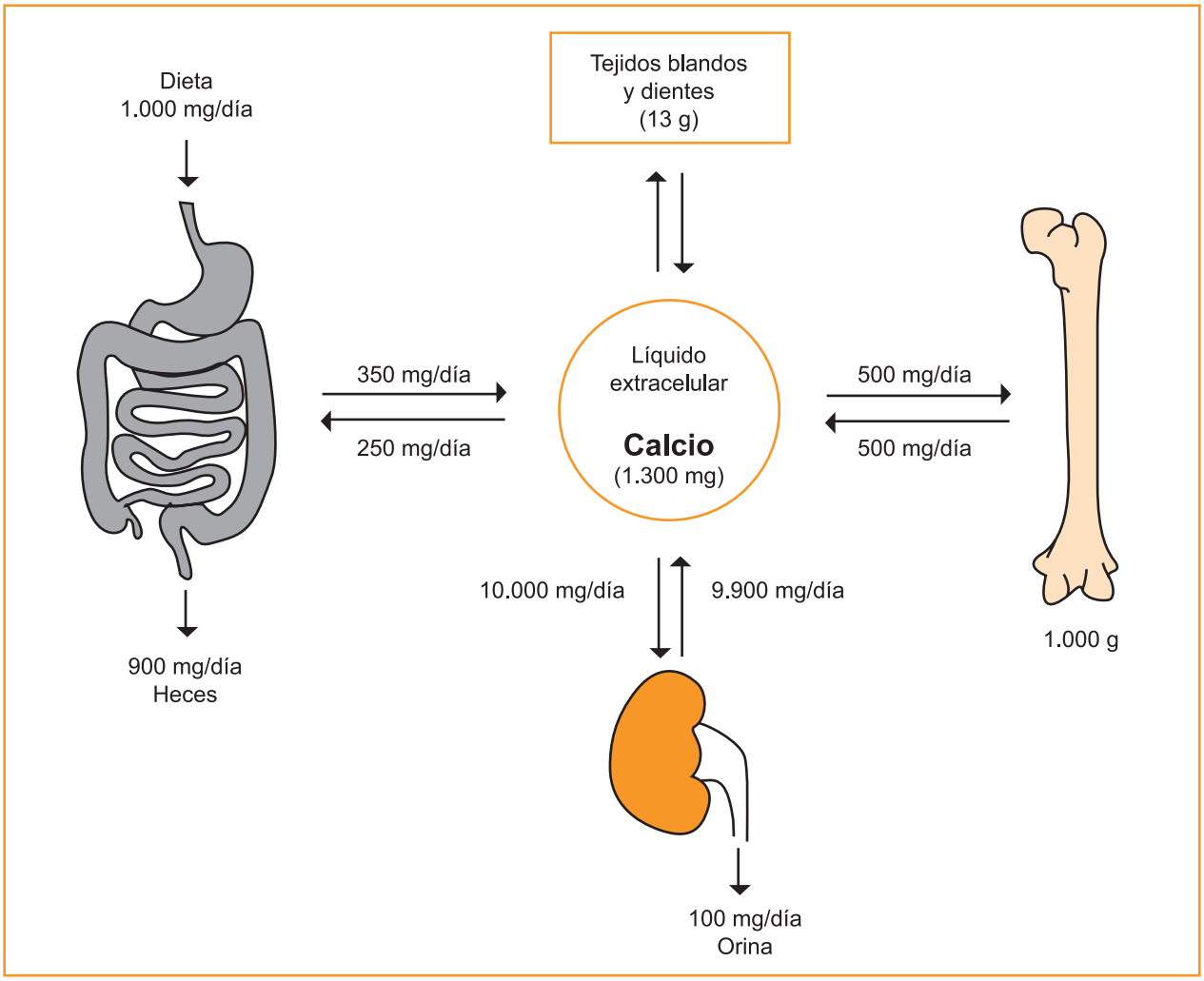


Figura 1. *Balance diario y localización del calcio en el individuo adulto.*

regular estimula la absorción intestinal y el depósito de calcio en el hueso, mientras que el sedentarismo acelera la desmineralización de la masa ósea.

Durante la infancia y la adolescencia, el balance de calcio es positivo, permitiendo el incremento del tejido óseo. El calcio es indispensable para la formación, mantenimiento y mineralización del hueso. En el tejido óseo, el fosfato cálcico no se encuentra inmóvil, sino que existe un equilibrio dinámico. Las dosis elevadas de vitamina D, el hipertiroidismo, la hormona adrenocorticotropa (ACTH), los glucocorticoides y los preparados sintéticos de cortisona desencadenan la destrucción de la matriz proteica y, por tanto, la liberación de calcio desde el hueso, que es en lo que, en definitiva, consiste la osteoporosis. Existe un complejo y preciso sistema de regulación de la calcemia, que se describirá más adelante como parte integrante del metabolismo óseo y su regulación.

La excreción del calcio se lleva a cabo por la vía renal y el tracto gastrointestinal. El calcio fecal procede de la fracción no absorbida de la dieta (origen alimentario) y restos celulares de la mucosa, jugos digestivos y bilis (origen endógeno). Es recomendable que las concentraciones de fosfato y calcio en la dieta sean similares, pues el exceso de cualquiera de dichos elementos aumenta su excreción en heces. La excreción urinaria de calcio se encuentra bajo control endocrino, está estimulada por los glucocorticoides, hormonas tiroideas y hormona del crecimiento, e inhibida por la vitamina D, la hormona paratiroidea (PTH) y los estrógenos.

2.4. Ingestas recomendadas y fuentes alimentarias

El calcio es uno de los minerales que mayores requerimientos presenta (800-1.200 mg/día) y que menos se aprovecha de la dieta, como, por ejemplo, en el caso de las espinacas, donde existe un alto contenido en oxalatos, cuya absorción no supera el 5-10%. Las cantidades recomendadas varían con la edad, siendo máximas durante la adolescencia (1.000 mg/día), que es cuando se produce el máximo pico de crecimiento. Para los niños, las recomendaciones de calcio son de 800 mg, al igual que para los adultos, sufriendo un incremento lógicamente en el embarazo y la lactancia **(Tabla 1)**.

Entre las fuentes dietéticas de calcio se encuentran la leche y los productos lácteos, que constituyen la fuente por excelencia de dicho mineral, seguidos de los pescados, las harinas integrales, los frutos secos y las legumbres.

2.5. Carencia: causas y efectos

La carencia de calcio puede ser ocasionada por el insuficiente aporte dietético de este mineral, por la deficiencia de vitamina D o por la muy baja relación Ca/P en la dieta. Dado que el hueso actúa como reservorio de calcio, es difícil que se mantenga una situación de hipocalcemia; por tanto, el efecto de la carencia de calcio es una insuficiente mineralización de la matriz ósea, que es lo que origina en la etapa infantil y adolescente el raquitismo, y en la edad adulta la osteomalacia (*ver Capítulos 4.33 y 4.34*).

2.6. Exceso: causas y efectos

No suelen darse ingestiones excesivas de calcio de procedencia alimentaria, pero sí puede ocurrir por el consumo de suplementos de este mineral. Dosis superiores a 2 g/día pueden ocasionar hipercalcemia, sobre todo si se ingieren suplementos de calcio y vitamina D combinados.

La intoxicación por hipercalcemia puede tener efectos más o menos graves dependiendo de la intensidad de la misma. Además de interferir en la absorción de otros cationes divalentes, tales como hierro, magnesio, manganeso y zinc, la hipercalcemia puede ocasionar estreñimiento, náuseas, poliuria y cálculos renales y, en situaciones extremas, la pérdida del tono muscular, el coma y la muerte.

3. Fósforo

3.1. Contenido y localización en el organismo

El fósforo es el sexto mineral más abundante en el organismo (600-900 g), representando el 0,8-1,1% del peso total del cuerpo. De su contenido corporal total, el 80% forma parte, junto con el calcio, de la estructura mineral del hueso y el diente; del resto, la mayoría se encuentra en los tejidos blandos y en baja proporción (1%), disuelto en el líquido extracelular. Al igual que ocurre con el calcio, en una situación de hipofosfatemia, el fosfato es cedido por el hueso, que actúa como reservorio de este mineral, aunque la regulación de su concentración en plasma es menos precisa que la del calcio.

En el organismo, la mayor parte del fósforo que no forma parte de huesos y dientes aparece en forma de sales inorgánicas ($H_2PO_4^-$ y $HPO_4^=$) y orgánicas. El fosfato inorgánico es más ionizable y difusible a través de las membranas que el orgánico. En el plasma, donde se puede encontrar unido a calcio, magnesio, sodio y proteínas, su concentración es de 3-4,5 mg/dl en los adultos, mientras que, en los niños, ésta es algo mayor (4-7 mg/dl). En los tejidos blandos, el fósforo forma parte de fosfolípidos, nucleótidos, ácidos nucleicos, enzimas, etc.

La bilis y el jugo pancreático, lo mismo que el jugo intestinal, contienen una considerable proporción de fósforo, y contribuyen a mantener el equilibrio entre la ingestión de fósforo y su excreción fecal.

3.2. Funciones en el organismo

Además de la función plástica que posee el fosfato junto con el calcio en el organismo, constituyendo los cristales de hidroxiapatita y formando parte estructural del esqueleto y de los dientes, este mineral desempeña otras muchas e importantes fun-

Tabla I. CONTENIDO CORPORAL, FUENTES ALIMENTARIAS, RECOMENDACIONES Y FUNCIONES DEL CALCIO, FÓSFORO, MAGNESIO Y FLÚOR

Mineral	Contenido corporal	Fuentes alimentarias	Recomendaciones	Funciones
Calcio	1.200-1.500 g	Leche Productos lácteos Pescados Mariscos	800-1.000 mg	Estructuras óseas Secreciones Contracción muscular Regulador de enzimas
Fósforo	600-900 g	Carnes Pescados Lácteos Alimentos procesados	800-1.200 mg	Estructuras óseas Fosfolípidos de las membranas ATP Tampón intracelular
Magnesio	25 g	Frutos secos Harinas integrales Hortalizas Chocolate	150-350 mg	Parte del hueso Secreciones Contracción muscular Actividad enzimática
Flúor	2,6-4,0 g	Agua fluorada Té Pescados	1,5-4,0 mg	Fortalecimiento del hueso Prevención de caries

ciones en los tejidos blandos. Así, juega un papel importante en el metabolismo de los hidratos de carbono, contribuyendo a la absorción intestinal de glucosa mediante el proceso de fosforilación, en el cual el fosfato se combina con la glucosa. Estimula la reabsorción tubular renal de glucosa mediante el mismo proceso. Se une a los lípidos constituyendo los fosfolípidos, que forman parte estructural de todas las membranas celulares.

El fósforo es necesario para multitud de reacciones en las que se requiere energía, siendo básico en la producción de moléculas energéticas como el ATP, fosfato de creatina y fosfoenolpirúvico. Forma parte del músculo e interviene en su metabolismo. Colabora en el transporte de los ácidos grasos, formando parte de los fosfolípidos plasmáticos. Constituye parte de los ácidos nucleicos, DNA y RNA, y de varios fosfátidos que intervienen en numerosos procesos biológicos. Asimismo, se encuentra en el AMP cíclico, que actúa como un segundo mensajero intracelular, y en otros nucleótidos libres.

Este mineral contribuye al control del equilibrio ácido-base en la sangre, formando parte del tampón fosfato, e igualmente es importante su papel amortiguador en el líquido intracelular, pero especialmente en el líquido extracelular, en la luz de los túbulos renales, donde neutraliza los iones hidrogeniones excretados por la bomba renal de protones. Por otro lado, el fósforo forma parte del tejido nervioso, siendo indispensable para su adecuado funcionamiento, así como para el mantenimiento de la actividad intelectual y sexual.

3.3. Absorción, metabolismo y excreción

En la **Figura 2** se representa el balance diario y la localización del fósforo en el individuo adulto.

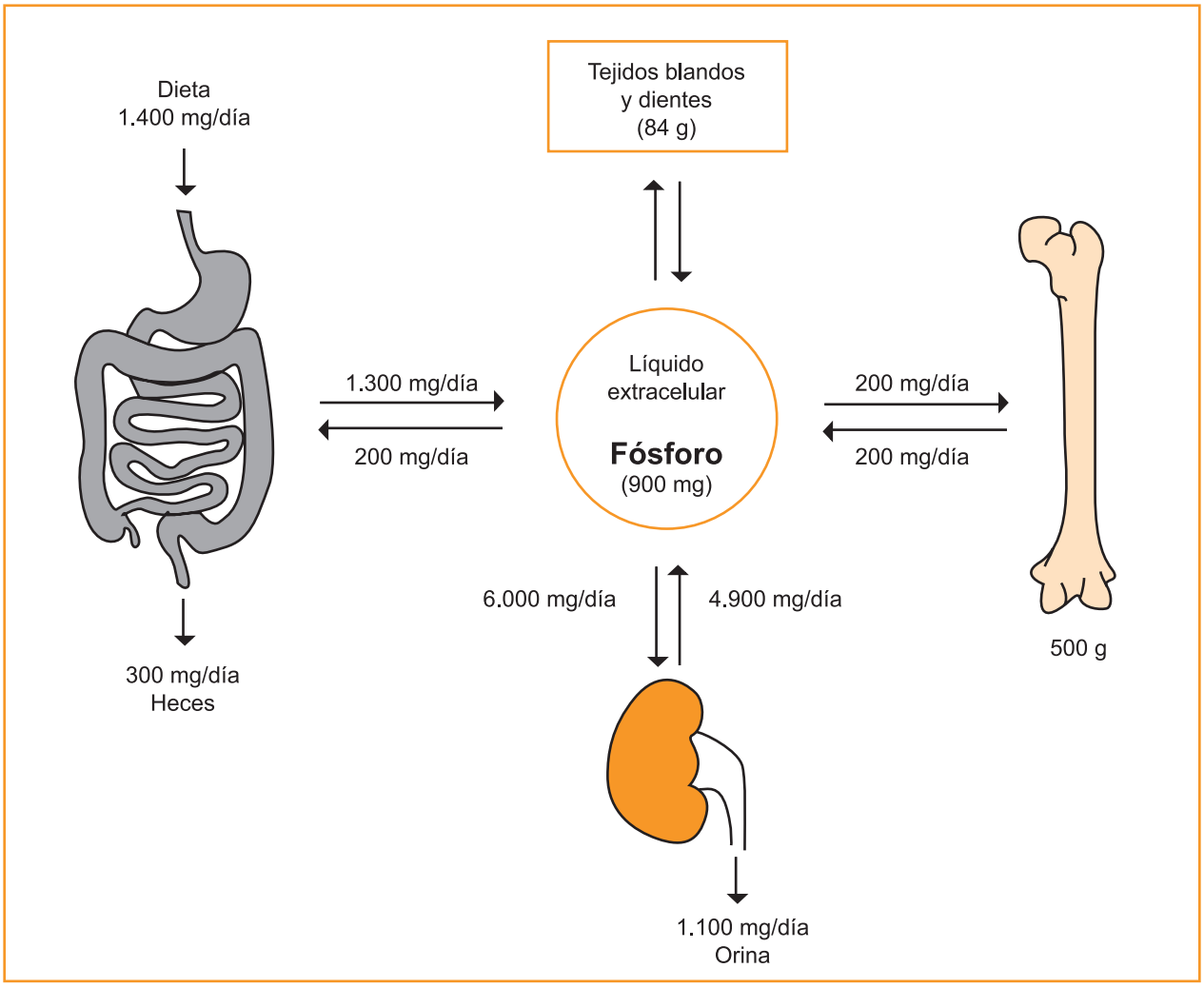


Figura 2. *Balance diario y localización del fósforo en el individuo adulto.*

La absorción del fosfato está estrechamente ligada a la del calcio, aunque al parecer, éste es absorbido más eficientemente que el calcio. Por término medio, se absorbe el 70% del fosfato total presente en una dieta mixta. La vitamina D aumenta su absorción por el intestino delgado. Los fosfatos de sodio o de calcio di o tricálcico son poco o nada asimilables, circunstancia que puede agravase al tomar una dieta rica en calcio o en cloruro de magnesio.

Durante la infancia y la adolescencia, el balance de fósforo es positivo, al igual que para el calcio, permitiendo el incremento del tejido óseo. Como ya se ha indicado, ambos iones son indispensables para la formación, mantenimiento y mineralización del hueso. Las dosis elevadas de vitamina D, el hipertiroidismo, la ACTH, los glucocorticoides y los preparados sintéticos de cortisona pueden ocasionar osteoporosis, porque destruyen la matriz orgánica y liberan fosfato desde el hueso. La vitamina D acelera la transferencia del fosfato orgánico de los tejidos blandos a fosfato inorgánico del tejido óseo.

La excreción del fosfato se produce por vía renal y tracto gastrointestinal. El riñón mantiene una relación entre el fósforo excretado y el fósforo presente en el plasma. La hormona paratiroidea (PTH) moviliza el fosfato del hueso y aumenta su excreción por los túbulos renales. La vitamina D actúa en sentido contrario. Sin embargo, a dosis elevadas aumenta la pérdida de fosfato. La PTH bloquea la reabsorción del fosfato cuando éste aumenta en

relación con la concentración de calcio en sangre. La acidosis aumenta la excreción del fosfato diácido por los túbulos renales, mientras que la alcalosis induce la excreción tubular de fosfato monoácido. La excreción fecal de fosfato endógeno es estimulada por el aumento de la fosfatemia, que a su vez es ocasionado por la elevación de la concentración de la PTH.

3.4. Ingestas recomendadas y fuentes alimentarias

La regulación del fósforo en nuestro organismo está muy relacionada con la del calcio, por lo que se recomienda la ingestión de ambos minerales en una relación 1:1, es decir, unos 800 mg/día, excepto en los lactantes, en los que la proporción de fósforo debe ser más baja que la del calcio **(Tabla 1)**.

El fósforo se encuentra ampliamente difundido en la naturaleza en forma de fosfatos, tanto en el reino mineral como en el vegetal y el animal. Buenas fuentes de este mineral son carnes, pescados, leche y sus productos derivados, frutos secos, legumbres, cereales, etc. Además, son muy ricos en fósforo los alimentos procesados tecnológicamente, pues se les añaden diversos aditivos que contienen este mineral.

3.5. Carencia: causas y efectos

No suelen darse situaciones de carencia de fósforo. En realidad, el fósforo abunda en todos los alimentos, como ya se ha dicho, y se absorbe en el intestino en una proporción relativamente alta en comparación con la del calcio. Salvo que existan problemas de regulación del fósforo en el organismo, son muy raras las situaciones carenciales de este mineral.

La hipofosfatemia aparece en algunas situaciones patológicas como en las afecciones intestinales con dificultad de absorción de fósforo (sprúe y enfermedad celiaca), en el hiperparatiroidismo primario, en los trastornos del balance calcio-fósforo por raquitismo y osteomalacia, en el perparatiroidismo por aumento de la excreción renal de fósforo, o bien por deficiente ingesta en la dieta. Los síntomas característicos de la hipofosfatemia son debilidad muscular, alteraciones óseas, raquitismo y osteomalacia.

3.6. Exceso: causas y efectos

La hiperfosfatemia no se suele dar por ingestión excesiva en individuos sanos, pero sí en ciertas enfermedades como insuficiencia renal, hipoparatiroidismo, glomerulonefritis aguda y crónica, en casos de crecimiento excesivo de los huesos, como sucede en los niños de bajo peso al nacer y en los acromegálicos, y también aparece tras la administración demasiado rápida por vía endovenosa de fosfato. El exceso de fósforo es responsable de síntomas fundamentalmente musculares, como la tetania.

4. Magnesio

4.1. Contenido y localización en el organismo

El magnesio es el segundo catión del medio intracelular en abundancia y está considerado, al igual que el calcio y el fosfato, como un mineral mayoritario, siendo su contenido de unos 25 g en el cuerpo del adulto. De este total, un 65-70% está en los huesos, que también constituyen una reserva de magnesio, al igual que el músculo en forma tanto de fosfato como de carbonato. El resto se localiza en el interior de las células de los tejidos blandos, en una concentración de 15 mEq/l, donde participa en la utilización de la energía metabólica, y en menor proporción en el plasma (1,4-2,5 mg/ml), de este último, alrededor del 80% está ionizado y es difusible, el resto está ligado a proteínas séricas. Los músculos contienen más magnesio que calcio, al contrario que la sangre. Para que el magnesio penetre en las células es indispensable que exista piridoxina (B_6). Con la edad, el contenido en magnesio del organismo tiende a disminuir.

4.2. Funciones en el organismo

Entre el magnesio y el calcio existen estrechas relaciones, pudiendo producirse tanto fenómenos de sinergismo como de antagonismo.

En el hueso, el magnesio forma parte de la estructura mineral, junto con el calcio y el fosfato y, además, participa en los procesos de intercambio de estos minerales entre el hueso y otros tejidos. Regula la osificación y el equilibrio fosfocálcico. Es esencial para que el calcio se fije adecuadamente y no se deposite en forma de cálculos. Regula el nivel de calcio por acción indirecta sobre las glándulas paratiroides. Disminuye la solubilidad del fosfato cálcico y aumenta la solubilidad del carbonato cálcico.

En los tejidos blandos, el magnesio tiene múltiples funciones, muchas de ellas similares a las del calcio. Por ejemplo, participa en la contracción de los músculos, secreciones de glándulas y transmisión de los impulsos nerviosos. Además, las enzimas que liberan la energía metabólica almacenada como ATP precisan magnesio, al igual que las implicadas en el metabolismo de otras moléculas fosforiladas ricas en energía.

Es importante para una normal excitabilidad muscular, al igual que el calcio. Estimula la contracción de la fibra muscular lisa. Tiene acción sobre el sistema circulatorio reequilibrante y protectora contra los infartos. Estimula la contractilidad cardiaca. Es un factor de crecimiento y un regenerador tisular que influye sobre el anabolismo. Además, el magnesio tiene acción estimuladora sobre el peristaltismo intestinal, desodoriza las heces, aumenta la secreción biliar, tiene acción colagoga y colerética, y forma parte de los jugos pancreáticos e intestinales.

El magnesio disminuye la excitabilidad del sistema nervioso central, fenómeno que se puede producir, por ejemplo, en la insuficiencia renal. Las acciones específicas del magnesio consisten en inhibir la liberación de la acetilcolina y contrarrestar el efecto oxidante de los iones de potasio en la placa motriz.

Este mineral participa en el metabolismo de los hidratos de carbono, activando enzimas del proceso glicolítico y la oxidación de la glucosa (fosforilación oxidativa), y también otras muchas enzimas como la fosfatasa alcalina, hexokinasa, fructokinasa, fosforilasas y fosfoglucomutasa. Interviene en el metabolismo de las proteínas, actuando como cofactor de su síntesis en los ribosomas. La traducción de la secuencia de bases para la obtención de la secuencia de aminoácidos se encuentra bajo la dependencia de las concentraciones de magnesio y de calcio. También interviene en la transferencia de grupos metilo (transmetilación), y es cofactor en las reacciones de descarboxilación.

Por otro lado, disminuye la alcalinidad de la sangre y acidifica la orina. Tiene una participación fundamental en la actividad electrolítica de las células, en el equilibrio ácido-base y en los fenómenos de óxido-reducción. Juega un importante papel en la respiración celular y en los intercambios celulares.

Es un antiséptico interno y externo. Participa en procesos de anafilaxia. Posee acción antiinflamatoria y antiinfecciosa. Estimula la fagocitosis y es indispensable para la acción de los anticuerpos. Mejora la resistencia al estrés por traumatismos e intervenciones quirúrgicas. Mejora el funcionamiento psíquico y la resistencia a la fatiga. Aumenta la actividad genésica y la libido. La ansiedad, la hiperemotividad y el insomnio producen una descarga del magnesio intracelular. Reequilibra el psiquismo y el sistema vegetativo. Tiene acción vagolítica.

Por último, el magnesio contribuye a la estabilización de la doble hélice de DNA, neutralizando las cargas de los grupos fosfato de los nucleótidos que tienen tendencia a separarse. La selectividad de la replicación del DNA está ligada a la presencia de iones magnesio, que permiten incorporar en la secuencia de DNA únicamente desoxirribonucleótidos. Este mineral también interviene en la transcripción del DNA y en la actividad de la RNA polimerasa.

La PTH actúa sobre el magnesio de forma semejante a como lo hace sobre el calcio.

4.3. Absorción, metabolismo y excreción

En la **Figura 3** se representa el balance diario y la localización del magnesio en el individuo adulto.

El magnesio de la dieta se absorbe por término medio en un 45%, concretamente en el intestino delgado y, en cierta proporción, en el estómago. El restante 55% es excretado en heces. El calcio y los factores que inhiben la absorción del calcio (fosfato, álcalis, exceso de grasa) también dificultan la del magnesio, mientras que la PTH incrementa su absorción.

La excreción de magnesio se lleva a cabo por vía fecal, urinaria y biliar. La excreción fecal es cuantitativamente la más importante. A través de la misma se elimina del 50 al 80% del total excretado. El

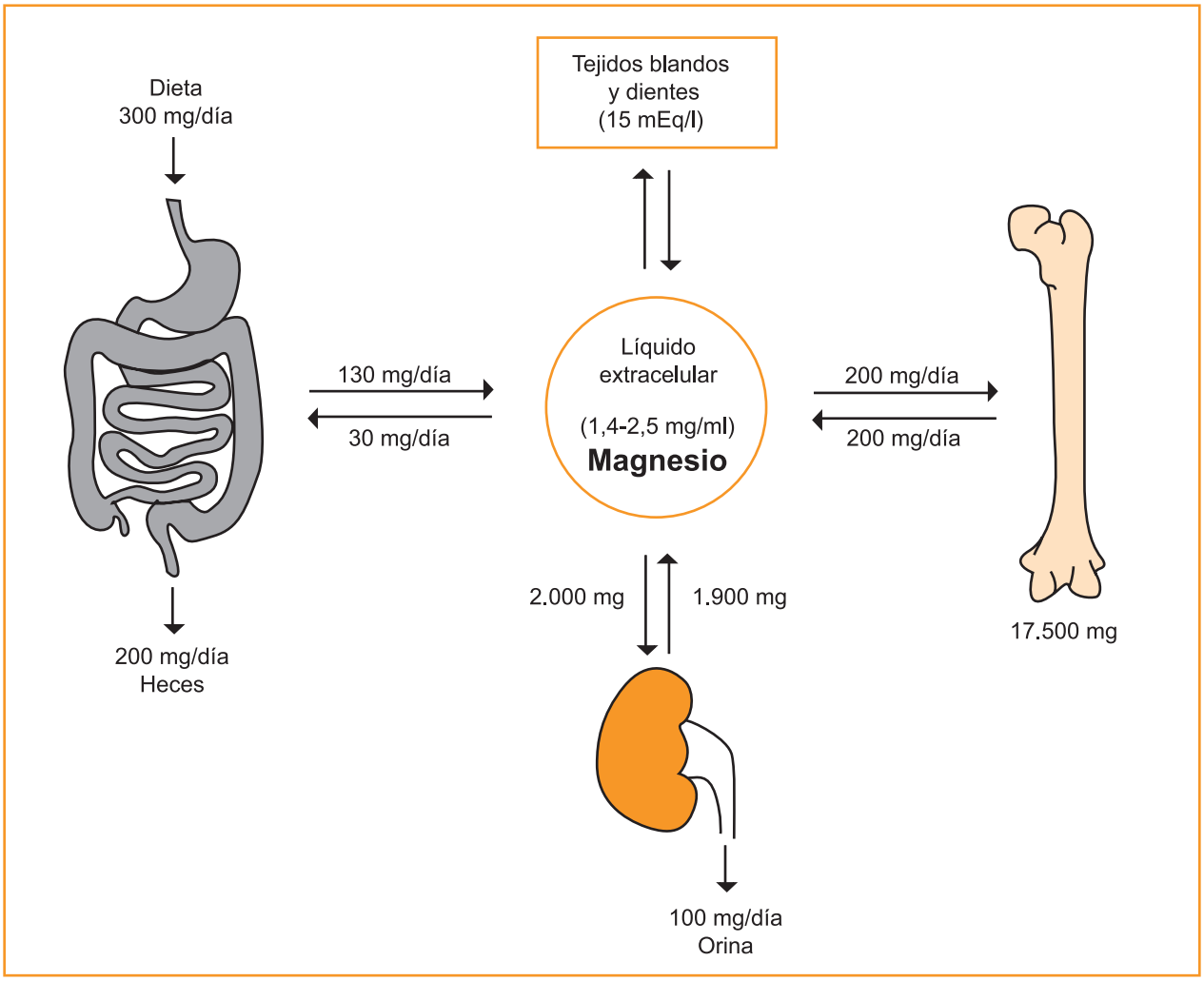


Figura 3. *Balance diario y localización del magnesio en el individuo adulto.*

riñón conserva eficientemente el magnesio, eliminándose tan sólo unos 60-120 mg/día en la orina. Varios son los factores que regulan la excreción renal de magnesio: los adrenes, paratiroides, hipófisis y el equilibrio ácido-base (acidosis) facilitan la excreción tubular distal de iones de magnesio. La aldosterona aumenta la permeabilidad renal para este catión, al igual que lo hace con el potasio, para conservar el sodio.

4.4. Ingestas recomendadas y fuentes alimentarias

Las ingestas recomendadas de magnesio son de 350 mg/día para los varones, 300 mg/día para las mujeres, y unos 150 mg/día para los niños. Las recomendaciones se incrementan durante el embarazo y la lactancia hasta los 400 mg/día **(Tabla 1)**. En la dieta, la relación entre el magnesio y el calcio es fundamental para la retención de ambos minerales.

En principio, buenas fuentes de magnesio son los vegetales, pues este mineral forma parte de la molécula de clorofila, en la que desempeña un papel biológico esencial, comparable al que tiene el hierro en la hemoglobina. Las nueces y otros frutos secos, así como las hortalizas y los cereales son ricos en magnesio, pero contienen fitatos y oxalatos que disminuyen su biodisponibilidad. El chocolate, por ejemplo, contiene unos 385 mg/100 g, pero también contiene oxalatos (124 mg/100 g).

Alimentos de origen animal con alto contenido en magnesio son los productos lácteos (quesos, leche, yogur), huevos y pescados.

4.5. Carencia: causas y efectos

Se considera un déficit de magnesio cuando su concentración plasmática es menor de 1 mEq/l, y generalmente se produce cuando existe hipocalcemia e hipopotasemia.

Entre las distintas causas que pueden originar déficit de magnesio, se encuentran: aporte insuficiente de magnesio en la dieta, especialmente por el elevado consumo de productos cultivados químicamente, alcoholismo (disminuye la absorción y aumenta la excreción en heces), vómitos frecuentes, diarreas, malabsorción intestinal, poliuria, diuresis excesiva por diuréticos, alimentación parenteral prolongada, y una gran diversidad de patologías, como la enfermedad de Adisson, enfermedades ulcerosas, pancreatitis aguda, insuficiencia renal crónica, cirrosis, cáncer, diabetes mellitus, nefritis crónica, insuficiencia cardiaca, acidosis metabólica, hiperaldosteronismo, hiperparatiroidismo e hipotiroidismo.

La hipomagnesemia puede ocasionar multitud de alteraciones, entre las que se encuentran: fatiga, tetania, espasmos, temblor, convulsiones, irritabilidad neuromuscular, agitación, confusión, vértigos, trastornos simpáticos, alteración en el ECG, accidentes cardiovasculares, trombosis, trastornos digestivos, lesiones hepatocelulares, trastornos del metabolismo glucídico, disminución de las reservas de glucógeno en hígado y músculo, y disminución del metabolismo del calcio, y éste puede depositarse en exceso en miocardio, riñón, paredes vasculares, etc.

4.6. Exceso: causas y efectos

La hipermagnesemia aparece en situaciones patológicas como la insuficiencia renal aguda, la enfermedad de Addison, o la nefritis crónica, ocasionando somnolencia, arritmias cardiacas, y depresión del sistema nervioso central, entre otros síntomas.

El exceso de magnesio puede combatirse por inyección de calcio.

5. Flúor

5.1. Contenido y localización en el organismo

Este oligoelemento, que se encuentra en el cuerpo en cantidades que varían entre los 2,6 y los 4 g, se localiza en dientes, piel, tiroides, huesos, plasma, linfa y vísceras. En el diente y en el hueso, el fluoruro se incorpora a los cristales de hidroxiapatita, por sustitución del ión hidroxilo y constituyendo la fluoroapatita.

$$[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2] \rightarrow [Ca_{10}(PO_4)_6(F)_2]$$

5.2. Funciones en el organismo

El flúor se conoce especialmente porque previene la aparición de caries dental, que consiste en una destrucción progresiva de la estructura del diente como resultado del ácido producido por las bacterias que se desarrollan en la superficie, constituyendo la llamada placa bacteriana.

La acción preventiva del fluoruro se debe a que refuerza la estructura mineral de los dientes y mantiene el esmalte, haciéndolos más resistentes a los ácidos y, por tanto, al desarrollo de la caries. Además, actúa sobre las bacterias cariogénicas, inhibiendo su metabolismo y su adhesión y agregación a la placa dental. También parece reducir la osteoporosis por sus efectos beneficiosos sobre el tejido óseo, aumentando la dureza de la estructura ósea y haciendo al hueso menos sensible a la resorción.

5.3. Absorción, metabolismo y excreción

La principal vía de incorporación del fluoruro al organismo es la digestiva. La absorción de este elemento se lleva a cabo por difusión simple y ocurre fundamentalmente en el intestino delgado (75-80%) y en menor proporción en el estómago (20-25%). El fluoruro del agua de bebida se absorbe casi en su totalidad (95-97%), y en una menor proporción el procedente de la dieta (60-70%). Una vez absorbido pasa a la sangre y de ahí a los restantes tejidos, fijándose específicamente en

los mineralizados, huesos y dientes, por los que tiene gran afinidad. Su metabolismo es modificado negativamente por la toma prolongada de corticoides y tranquilizantes. Se excreta fundamentalmente por la orina.

5.4. Ingestas recomendadas y fuentes alimentarias

La cantidad diaria recomendada es de 1,5 a 4 mg/día para los adultos y algo menor en niños y adolescentes (1-2,5 mg/día) **(Tabla I)**.

La principal fuente exógena de fluoruro es el agua de bebida, sobre todo las aguas potables fluoradas; sin olvidar que algunos alimentos también contribuyen al aporte de este mineral, como son los pescados de origen marino y el té y, en menor proporción, carnes, huevos, cereales, verduras y frutas.

5.5. Carencia: causas y efectos

La carencia de fluoruro se suele presentar en individuos que viven en lugares donde el agua de bebida contiene menos de 1 mg/l, manifestándose su déficit por la aparición más frecuente de caries dental.

5.6. Exceso: causas y efectos

La ingestión de cantidades elevadas de fluoruro se produce por sobrefluoración del agua de bebida o por contaminación industrial. El exceso de fluoruro origina la fluorosis, que se caracteriza por un moteado del esmalte que aparece también carcomido (a dosis de 2 mg/l).

La fluorosis ocasionada por dosis de 8 mg/ml se traduce en un aumento de la densidad ósea con calcificaciones ligamentarias, especialmente en la columna vertebral (espondilitis deformante), debido a la formación de fluoroapatita, que son cristales más grandes y menos solubles que los de hidroxiapatita, y el hueso se hace más estable y, por tanto, más envejecido.

A dosis superiores se producen alteraciones tiroideas, retraso del crecimiento y lesiones renales.

6. El tejido óseo: composición y estructura

El hueso es un tejido conectivo mineralizado, de composición heterogénea y estructura compleja, muy dinámico y vascularizado, en el que se pueden diferenciar los siguientes componentes, una matriz orgánica, constituida mayoritariamente por colágeno, una matriz inorgánica, formada fundamentalmente por cristales de calcio y fosfato, y el componente celular, que representa el 2% de la materia orgánica del hueso y está formado por los osteoblastos, osteocitos y osteoclastos, que son los responsables de la formación, mineralización, modelación y remodelación ósea.

Además de proporcionar el soporte estructural para el movimiento y de la función de sostén y protección de este tejido, la matriz ósea representa el principal reservorio de estos minerales en el organismo, constituyendo el 99% del calcio, el 80% del fosfato y el 35% del magnesio del contenido total del cuerpo.

Desde un punto de vista estructural se pueden diferenciar dos tipos de hueso:

a) El hueso compacto o cortical, constituido por láminas en disposición concéntrica alrededor de un canal o conducto de Havers, formando las denominadas osteonas. Se localiza en las diáfisis de los huesos largos, en la superficie de los planos y en la periferia de los cortos. Representa el 80% de la masa esquelética total.

b) El hueso esponjoso, también conocido como trabecular o reticular, formado por una malla rígida mineralizada y localizado en el cuerpo vertebral y en las epífisis y metáfisis de los huesos largos. Se caracteriza por presentar un metabolismo muy activo y una alta velocidad de recambio. Representa el 20% de la masa esquelética total.

La pérdida de masa y densidad óseas provoca la osteoporosis, enfermedad ósea que aparece frecuentemente en ancianos, especialmente en mujeres (*ver Capítulo 4.34*).

6.1. Matriz orgánica del hueso

La matriz orgánica representa del 30 al 35% del volumen total del hueso. Está constituida mayoritariamente por fibras de colágeno del tipo I (95%). El restante 5% está formado por la denominada

sustancia fundamental, que contiene líquido extracelular (fluido óseo) y proteínas óseas no colágenas, sintetizadas por los osteoblastos. Entre éstas, se encuentran: a) glicoproteínas, b) proteoglicanos, c) proteínas con ácido γ-carboxiglutámico, d) factores de crecimiento, y e) proteínas morfogénicas del hueso.

a) Glicoproteínas, como la fosfatasa alcalina y las proteínas con secuencia RGD [osteopontina, sialoproteína del hueso (BSP), fibronectina, trombospontina y osteonectina]. Las proteínas con secuencia RGD se caracterizan por contener en su secuencia el tripétido Arg-Gli-Asp, que es reconocido por los receptores de membrana de las células óseas (integrinas), facilitando así el anclaje de estas células en la matriz osteoide y su migración sobre ella. La osteonectina, muy abundante en el hueso, se une a las fibras de colágeno facilitando la formación de los cristales de hidroxiapatita. La ostepontina y la sialoproteína del hueso desempeñan también un importante papel en la mineralización ósea.

b) Los proteoglicanos son macromoléculas formadas por un núcleo proteico central al que se unen oligosacáridos y glucosaminoglicanos. Se han identificado distinto tipos, condroitín-sulfato, hialuronano, decorina y biglucano, que cumplen funciones tan importantes como la participación en la morfogénesis ósea y la modulación de la actividad de distintos factores de crecimiento.

c) Las proteínas con ácido γ-carboxiglutámico, como la osteocalcina (BGP) y la proteína del osteoide con ácido γ-carboxiglutámico, se caracterizan por contener este ácido glutámico modificado, capaz de combinarse con el ión calcio entre sus dos grupos carbonilo. Ambas proteínas estimulan la mineralización de la matriz orgánica y facilitan la adhesión de las células óseas a la misma.

d) Los factores de crecimiento constituyen un numeroso grupo de polipéptidos que intervienen en diversos procesos del metabolismo óseo, entre los que se encuentran los factores de crecimiento insulínico tipo I y II (IGF-I, IGF-II), que estimulan la síntesis de colágeno tipo I y participan en la interacción osteoblasto-osteoclasto, y los factores transformadores del crecimiento β (TGF-β), que estimulan la síntesis des colágeno tipo I y de proteínas no colágenas (*ver Capítulo 1.4*).

e) Las proteínas morfogénicas del hueso (BMP) están estructuralmente muy relacionadas con los TGF-β, perteneciendo a la misma familia de interleukinas. Se han identificado hasta 15 tipos de BMP, entre los que se encuentra la osteogenina, que estimula la formación de hueso nuevo y participa en la reparación de fracturas.

6.2. Matriz inorgánica del hueso

La matriz inorgánica representa del 65 al 70% del volumen total del hueso. Está formada mayoritariamente por sales de calcio y fosfato, organizadas en forma de cristales de fosfato básico de calcio, hidroxiapatita [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$] y, además, pueden encontrarse en baja proporción otros iones, como magnesio, sodio, potasio, manganeso, fluoruro, carbonato, citrato y cloruro, adsorbidos a la superficie de los cristales de hidroxiapatita, e incluso algunos elementos contaminantes como plomo, cadmio, uranio o estroncio.

6.3. Componentes celulares del hueso

6.3.1. Osteoblastos

Los osteoblastos son células mononucleadas que se originan de las células del estroma mesenquimatoso. Estas células se reclutan y se dirigen hasta el lugar de la formación del hueso, donde son responsables de sintetizar, segregar, organizar y mineralizar la matriz ósea, u osteoide. Éste está compuesto fundamentalmente por colágeno de tipo I, el único que puede mineralizarse, y por otras proteínas no colágenas, tales como osteopontina, osteonectina y osteocalcina, como ya se ha indicado. Tras la formación del osteoide, normalmente se produce una rápida mineralización con calcio y fosfato.

Existen cuatro etapas comúnmente aceptadas en la vida de los osteoblastos: preosteoblastos, osteoblastos, osteocitos, y células osteoblásticas posproliferativas.

La secuencia temporal comienza con el preosteoblasto, caracterizado por segregar fosfatasa alcalina y por su situación en el hueso, distante dos capas de células de los osteoblastos maduros. Una vez localizados en la posición correcta, los preosteoblastos comienzan a producir matriz ósea y se convierten en osteoblastos. Estos últimos, cuando cesa su actividad sintetizadora y mineralizante, pueden tener tres destinos diferentes:

a) Una pequeña fracción de osteoblastos se diferencia en osteocitos, así denominados porque están embebidos y rodeados por material óseo. Los osteocitos suponen el mayor grado de desarrollo de los osteoblastos y, aunque su metabolismo está muy disminuido, en la actualidad están siendo estudiados porque parecen responder y ser transductores de estimulaciones mecánicas.

b) Las superficies quiescentes de los huesos están pobladas con células osteoblásticas posproliferativas, conocidas como células lineales del hueso. Estas células son inactivas en cuanto a su capacidad de producir matriz ósea, pero parecen ser las activadoras del proceso de remodelación ósea.

c) En tercer lugar, la mayor parte de los osteoblastos mueren por apoptosis.

6.3.2. Osteoclastos

Los osteoclastos son células grandes, multinucleadas, que llevan a cabo la resorción de hueso y que se forman por fusión de células precursoras hematopoyéticas (CFU) de una línea de monocitos-macrófagos, denominada CFU-M, que llegan desde la circulación sanguínea.

Los osteoclastos no sólo desempeñan una función importante en el mantenimiento del esqueleto, sino también en la homeostasis de electrólitos. Esto explica por qué las vías de regulación de los osteoclastos son complejas. Durante la resorción del hueso, los osteoclastos producen y liberan enzimas lisosomales, protones y radicales libres, a través de un borde rizado u ondulado de su membrana plasmática, a un espacio extracelular confinado cerca del hueso, denominado compartimento resortivo, que disuelve el mineral, degrada la matriz ósea y produce cavidades resortivas llamadas lagunas de Howship **(Figura 4)**. Los osteoclastos, después de haber resorbido el hueso, mueren por apoptosis.

7. Metabolismo del tejido óseo

El desarrollo del esqueleto, con el simultáneo crecimiento y sustitución del cartílago por hueso, y el posterior modelado y remodelado óseos, depende de diferentes factores:

a) La vascularización y la concentración de nutrientes que recibe el tejido.

b) Las fuerzas de estiramiento y torsión, además de la presión hidrostática, consecuencia fundamental del movimiento y de la influencia de otros tejidos adyacentes como el músculo.

c) La modulación de hormonas sistémicas y de diversos factores de crecimiento.

7.1. Formación ósea

Se pueden diferenciar dos procesos de formación ósea, la formación primaria o intramembranosa y la formación secundaria o endocondral. En el primer caso, las células progenitoras mesenquimatosas condensan y, en lugar de desarrollar cartílago, se diferencian directamente en osteoblastos. La osificación endocondral gobierna la mayor parte de la formación del hueso, y es dependiente de la estructuración de un andamiaje de cartílago no vascularizado, que posteriormente es reemplazado por hueso.

Los condrocitos derivan de células del estroma mesenquimatoso y su maduración está marcada por cambios morfológicos y cambios concomitantes en su actividad biosintética, requerimientos energéticos y metabolismo. En su forma más simple, los condrocitos son células pequeñas y redondeadas, localizadas en una región no mineralizante del hueso, que sintetizan fundamentalmente colágenos y proteoglicanos, que son los constituyentes principales de la matriz cartilaginosa. Cuando los condrocitos maduran, incrementan su tamaño (hipertrofia) y aumentan la síntesis de matriz cartilaginosa. El proceso de hipertrofia de los condrocitos permite que la placa de cartílago crezca y el incremento en la síntesis de matriz cartilaginosa provee a los osteoblastos de sustratos para la osificación. Ambos objetivos son imperativos en el crecimiento endocondral óseo. El estadio final de los condrocitos se manifiesta por apoptosis, dejando expedita la vía a la acción de los osteoblastos.

En la formación del hueso, el paso inicial es la secreción, por parte de los osteoblastos, de moléculas de colágeno (monómeros de colágeno) y de la sustancia fundamental formada por proteínas no colágenas. Los monómeros de colágeno se polimerizan y forman fibras de colágeno y constituyen el tejido ostoide (similar al cartilaginoso), que acepta la precipitación de las sales cálcicas.

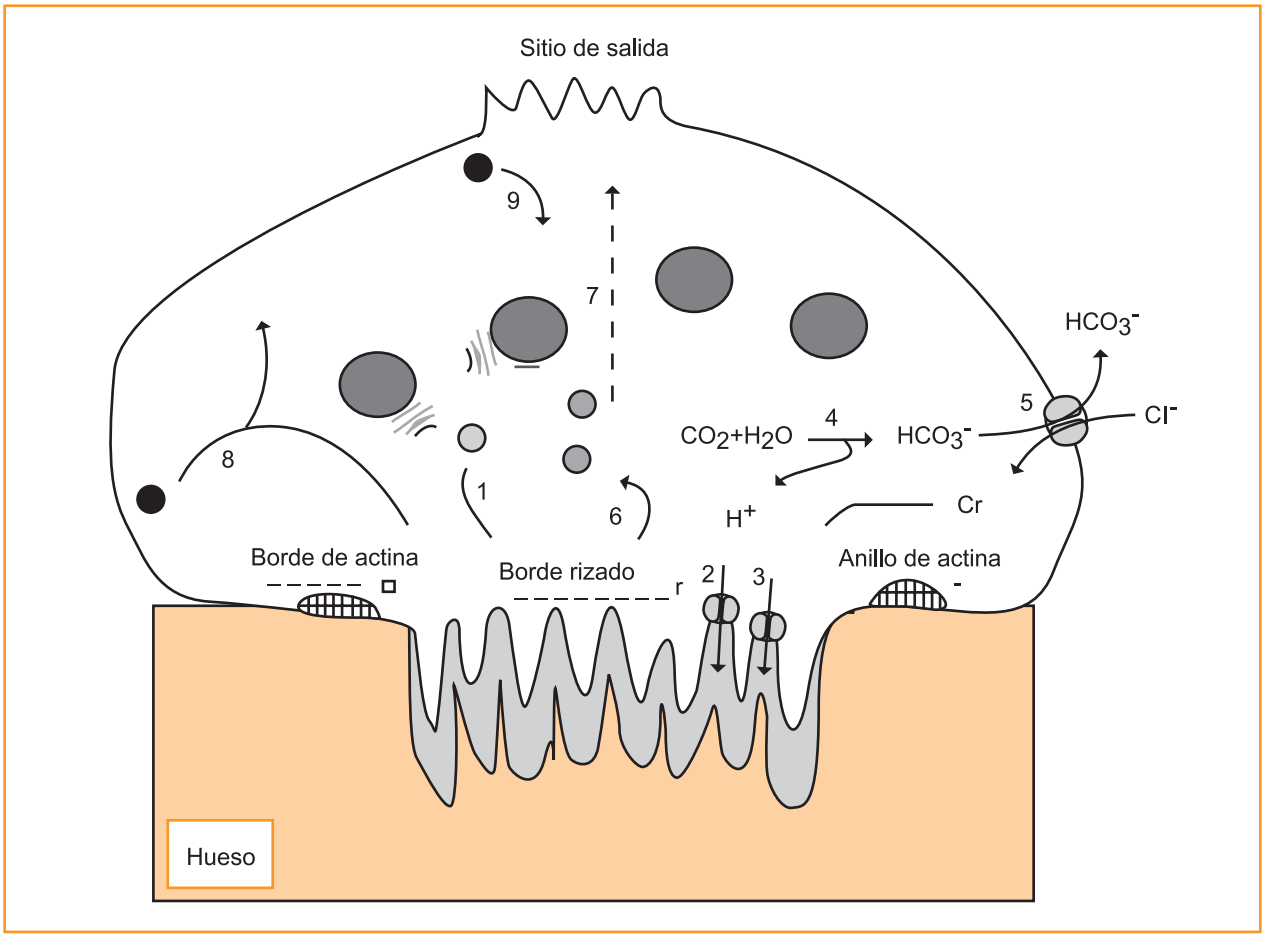


Figura 4. *Metabolismo de los osteoclastos. 1: vesículas de transporte de enzimas lisosómicas y de V-ATPasa hacia el borde rizado; 2: V-ATPasa que media la acidificación del espacio extracelular; 3: canales de cloruro necesarios para el mantenimiento de la electroneutralidad de la bomba de protones; 4: generación de protones mediada por la anhidrasa carbónica; 5: intercambiador de cloruro-bicarbonato; 6: endocitosis de proteínas degradadas de la matriz; 7: vía de transcitosis de las proteínas de la matriz cuya entrada se ha realizado por endocitosis; 8: endocitosis mediada por el receptor de la membrana plasmática basolateral; 9: vesículas de reciclado del sitio de salida del osteoclasto. Fuente: Gil Á. Bases moleculares del desarrollo y del metabolismo óseo. En: Díaz Curiel M, Gil Á, Mateix M (eds.). Nutrición y salud ósea, 2004.*

Los procesos de osificación endocondral y de condrogénesis necesitan de una regulación fina para que se produzcan el crecimiento y la morfogénesis adecuados. En esta regulación están implicados varios factores de crecimiento y de transcripción, como el péptido relacionado con la PTH (PTHrP), que modula la diferenciación de los condrocitos y previene su hipertrofia excesivamente rápida. La hormona tiroidea (T_3) desempeña un papel muy importante en el desarrollo y en el mantenimiento de la masa ósea, regulando la proliferación de los condrocitos y la organización de las columnas celulares, y promueve la diferenciación hipertrófica terminal, induciendo la calcificación de la matriz de cartílago y formación ósea. Otra familia de factores de crecimiento y de receptores que desempeñan un papel importante en la diferenciación de los condrocitos son los factores de crecimiento de los fibroblastos (FGF) y sus receptores. El FGFR3 y su ligando controlan negativamente la formación del hueso, al limitar la proliferación de los condrocitos. La ecogenina o factor genético de osificación endocondral, también denominado CTGF (factor de crecimiento del tejido conectivo) o HCS24 (producto 24 del gen específico de los condrocitos hipertróficos), es otro factor importante

que promueve la proliferación y maduración de las células del cartílago en crecimiento, así como la hipertrofia de los condrocitos. Asimismo, este factor estimula la proliferación y diferenciación de los osteoblastos.

7.2. Mineralización de la matriz orgánica u osteoide

Los osteoblastos que quedan atrapados entre las fibras de colágeno de la matriz orgánica se transforman en osteocitos. Pocos días después de formado el tejido osteoide en las fibras de colágeno se precipitan las sales de calcio y fosfato. La precipitación inicial no es en forma de cristales de hidroxiapatita, sino como compuestos amorfos no cristalinos, mezclados con combinaciones de calcio y fosfatos. Posteriormente, por un proceso de adición y sustitución, y también de reabsorción y nuevas precipitaciones, estas sales amorfas se convierten en cristales de hidroxiapatita. Este proceso puede durar semanas o meses, pero hasta el 20% del calcio precipitado permanece en forma de sales amorfas, que se absorben rápidamente cuando es necesario elevar los niveles de calcio de los líquidos extracelulares.

El plasma constituye una solución acuosa sobresaturada en calcio y fosfato con respecto a la hidroxiapatita. Se podría producir una mineralización total del plasma si no existieran en éste sustancias que inhiben la precipitación de hidroxiapatita en todos aquellos tejidos que están en contacto con el plasma. Por tanto, la mineralización de la sustancia osteoide será el resultado del equilibrio entre las moléculas "nucleantes", favorecedoras de la formación, depósito y crecimiento del cristal de hidroxiapatita, y las que realizan el efecto contrario.

Entre las sustancias favorecedoras se encuentran algunas proteínas no colágenas, como ya se ha comentado (osteonectina, trombospondina y las ricas en ácido γ-carboxiglutámico). Las inhibidoras son proteoglicanos que inhiben el paso de las sales de calcio y fosfato amorfas a hidroxiapatita, el ATP y el pirofosfato que se unen fuertemente al calcio y fosfato, impidiendo el paso a hidroxiapatita, y los iones magnesio, que poseen una acción sinérgica con el ATP, retardando la transformación del fosfato no cristalino en hidroxiapatita.

7.3. Modelado y remodelado óseos

El modelado óseo es el proceso por el cual los huesos crecen, adquieren y mantienen una determinada forma durante la infancia y la adolescencia. El remodelado constituye un ciclo completo y acoplado de reabsorción y reconstrucción de los huesos durante toda la vida. La reabsorción resulta de la degradación de la matriz osteoide y la disolución del componente mineral. La reconstrucción es consecuencia de la síntesis y mineralización de nueva matriz. El hecho clave para un correcto remodelado será el acoplamiento y equilibrio entre la reabsorción y la formación del tejido esquelético.

La finalidad del remodelado es neutralizar el desgaste y fatiga de los materiales del hueso, secundarios a las continuas tensiones a que son sometidos. Aunque con ciertas diferencias entre el hueso cortical y el trabecular, el remodelado resulta de la secuencia acoplada de las siguiente fases:

a) Activación de osteoclastos, por estímulos físicos, hormonas y factores de crecimiento.

b) Reabsorción por los osteoclastos de la matriz mineralizada.

c) Invasión por los osteoblastos del área reabsorbida para iniciar y completar la formación de nuevo hueso.

El proceso dinámico de resorción y formación de hueso se mantiene de manera secuencial por la actividad de los componentes osteoclástico y osteoblástico que actúan bajo el influjo de múltiples factores endocrinos, paracrinos y autocrinos. La regulación de la formación, modelación y remodelación óseas se describe con detalle en el apartado siguiente.

8. Regulación del metabolismo óseo

8.1. Regulación endocrina del metabolismo óseo

Tres son las principales hormonas sistémicas que regulan las actividades de formación y resorción óseas: hormona paratiroidea (PTH), calcitonina (CT) y vitamina D activa [$1,25(OH)_2D_3$]. Todas ellas participan en el mantenimiento de la constan-

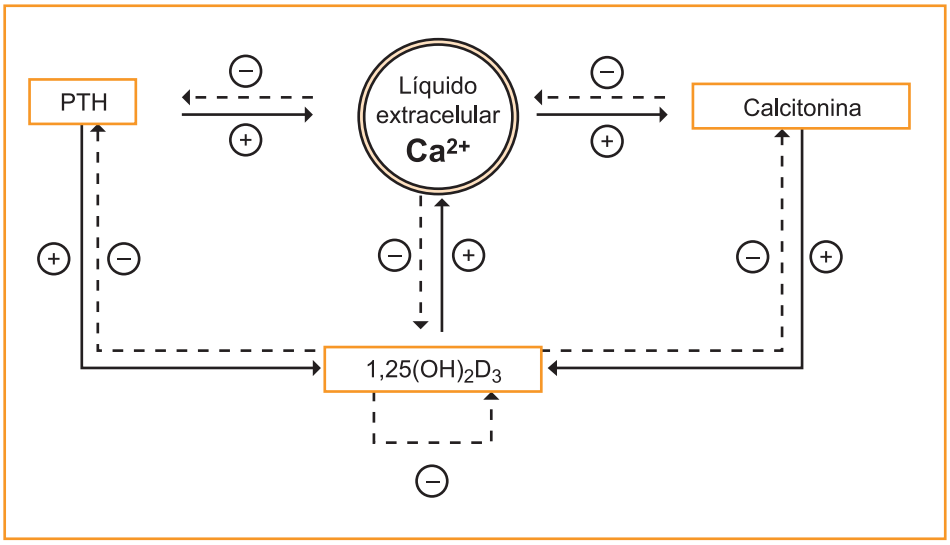


Figura 5. *Relación entre la concentración plasmática de calcio y las principales hormonas implicadas en el metabolismo óseo.*

cia de la concentración plasmática de calcio **(Figura 5)**; para ello, no sólo ejercen su acción sobre el hueso, sino también sobre el intestino y el riñón. Existen también otras hormonas que participan, en menor medida, en la regulación del metabolismo óseo y de la homeostasis del calcio y el fosfato: glucocorticoides, péptido relacionado con la PTH (PTHpr), péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), estrógenos, prolactina, hormonas tiroideas, insulina, hormona del crecimiento (GH), IGF-I y otros factores de crecimiento.

8.1.1. Hormona paratiroidea

La hormona paratiroidea o parathormona (PTH) es sintetizada por las células principales de las glándulas paratiroides, que en la especie humana están localizadas en el cuello, en número de cuatro, concretamente en la superficie posterior de los lóbulos de la glándula tiroides.

Esta hormona, de naturaleza polipeptídica, tras ser sintetizada en los ribosomas de las células principales y antes de llegar a la circulación sistémica, sufre dos modificaciones postraduccionales, consistentes en la separación de dos fragmentos, uno de 25 aminoácidos, denominado secuencia pre, y otro de 6 aminoácidos, llamado secuencia pro. Ambos cumplen la misión de facilitar el desplazamiento de la hormona hacia sus vías de secreción. Inicialmente se forma la pre-proPTH (115 aminoácidos), que tras su llegada a la membrana del retículo endoplasmático es transformada en proPTH (90 aminoácidos), por la escisión de la secuencia pre. La proPTH alcanza el aparato de Golgi, donde es convertida en la hormona activa PTH (84 aminoácidos), por la pérdida de la secuencia pro, y almacenada en las vesículas y gránulos de secreción hasta el momento de su liberación, que se producirá como respuesta a una situación de hipocalcemia. La vida media de la PTH es de unos 20-30 minutos.

El principal estímulo responsable de la síntesis y liberación de la PTH por las glándulas paratiroides es la hipocalcemia, mientras que la hipercalcemia tiene el efecto contrario **(Figura 5)**. Otros estímulos para la liberación de PTH son los cambios en la concentración de magnesio, los corticoides y las catecolaminas. La adrenalina aumenta la secreción de PTH mediante un efecto mediado por los receptores β-adrenérgicos. En un principio, también se pensó que el aumento de la concentración plasmática de fosfato estimulaba directamente las glándulas paratiroides. Sin embargo, hoy se sabe que no es así, sino que lo hace indirectamente por disminución de la calcemia.

La PTH es una hormona hipercalcemiante e hipofosfatemiante. Sus tejidos diana son el hueso y el riñón, sobre los que ejerce su acción de forma directa tras la unión de esta hormona a su receptor, acción que está mediada por el AMP cíclico y proteínas kinasas. Asimismo, la PTH indirectamente también actúa sobre el intestino.

En el hueso, las células diana directas son los osteblastos que, una vez activados por la hormona, estimulan a su vez a los osteoclastos. Se ha podido comprobar que, en ausencia de osteoblastos, los osteoclastos aislados no responden a la PTH. El resultado de la acción hormonal es una inhibición de

la síntesis de colágeno tipo I de la matriz orgánica y una estimulación de la resorción ósea, aumentando la calcemia. En el riñón, actúa sobre las células tubulares, estimulando la reabsorción de calcio y favoreciendo la excreción de fosfato, lo que contribuye al aumento de los niveles plasmáticos de calcio. Indirectamente, también actúa sobre el intestino, estimulando la absorción intestinal de calcio por activación de la vitamina D en el riñón.

8.1.2. Calcitonina

La calcitonina (CT) es sintetizada por las células C o parafoliculares de la glándula tiroides. Estas células se originan por migración embrionaria temprana de la cresta neural, son ricas en gránulos secretores y se localizan dispersas entre las células foliculares productoras de tiroxina. Existen en el organismo otros lugares de síntesis de CT, como la próstata, útero, bazo, paratiroides, adrenes e hipófisis.

Esta hormona, de naturaleza polipeptídica al igual que la PTH, tras ser sintetizada y antes de ser liberada a la circulación sistémica, sufre una modificación postraduccional, consistente en la separación de un fragmento de 104 aminoácidos en su extremo aminoterminal. Inicialmente se forma la preCT o precursor de la CT (136 aminoácidos), que tras su llegada a la membrana del retículo endoplasmático es transformada en la hormona activa CT (32 aminoácidos). Ésta será almacenada en los gránulos de secreción hasta el momento de su liberación, que se producirá como respuesta a una situación de hipercalcemia. La vida media de la CT es de unos 5-15 minutos.

El principal estímulo responsable de la síntesis y liberación de la CT es la hipercalcemia, mientras que la hipocalcemia tiene el efecto contrario **(Figura 5)**. El incremento de la concentración plasmática de calcio es detectado por el receptor sensible al calcio de la membrana de las células parafoliculares, que responden con un aumento de la secreción de CT. También estimulan su secreción otras hormonas, como el glucagón, la colecistokinina, la gastrina y la secretina, mientras que la vitamina D la inhibe.

La CT es una hormona hipocalcemiante e hipofosfatemiante. Sus principales tejidos diana son el hueso y el riñón, y en menor proporción el intestino. Las acciones de la CT, tras la unión a su receptor, están mediadas fundamentalmente por dos segundos mensajeros, el AMP cíclico y la fosfolipasa C.

En el hueso, las células diana directas de la hormona son los osteclastos, sobre los que actúa, reduciendo su tamaño e inhibiendo su actividad y, consecuentemente, disminuyendo la resorción ósea y la liberación de calcio desde el hueso. A diferencia de lo que ocurre con la PTH, en ausencia de osteoblastos, los osteoclastos aislados responden a la CT. Su posible acción sobre los osteoblastos en la estimulación de la formación ósea es actualmente discutida. En el riñón, actúa sobre las células tubulares, estimulando la excreción de calcio y fosfato e inhibiendo su reabsorción, lo que contribuye al descenso de los niveles plasmáticos de calcio y fosfato. En el intestino, la CT disminuye la absorción de calcio y fosfato.

8.1.3. Vitamina D activa [1,25(OH)$_2$D$_3$]

La vitamina D puede proceder de la dieta, tanto de alimentos de origen animal (D_3) como vegetal (D_2), o bien de la piel, donde, por acción de la radiación solar, se forma por fotoactivación a partir de su precursor, el 7-deshidrocolesterol.

Para que la vitamina D_3 o colecalciferol pueda ejercer sus acciones, requiere un proceso previo de activación que incluye dos etapas. La primera tiene lugar en el hígado y consiste en una hidroxilación en el carbono 25, por acción de la 25-hidroxilasa, transformándose en el 25-hidroxicolecalciferol [25(OH)D_3], de unos 15-30 días de vida media. La segunda etapa, que se produce en el riñón, es una hidroxilación en el carbono 1 por acción de la 1-α-hidroxilasa, dando lugar al 1,25-dihidroxicolecalciferol [1,25(OH)$_2$D$_3$] o metabolito activo de la vitamina D_3 (calcitriol), de unas 5-8 horas de vida media. Además, se pueden formar otros metabolitos cuando la segunda hidroxilación ocurre en otras posiciones. Algunos de ellos son, por ejemplo, el 24,25-dihidroxicolecalciferol, el 1,24,25-trihidroxicolecalciferol y el 25,26-dihidroxicolecalciferol, que carecen o presentan muy baja actividad (*ver Capítulo 1.24*).

La síntesis de vitamina D_3 activa está controlada a nivel enzimático, concretamente por la enzima 1-α-hidroxilasa renal, cuya actividad es estimulada por la PTH. En ausencia de PTH, su actividad es prácticamente nula. Por tanto, la hipocalcemia, in-

directamente y a través de la liberación de PTH, aumenta la formación de vitamina D_3 activa. La hipofosfatemia estimula la actividad de la 1-α-hidroxilasa renal, al mismo tiempo que inhibe la destrucción de la vitamina. Además, la propia vitamina D inhibe su síntesis a nivel enzimático, por un proceso de retroalimentación. Otras hormonas también regulan la concentración de $1,25(OH)_2D_3$. Así, los estrógenos la aumentan, por estimulación de la síntesis de la proteína hepática transportadora de la D_3 al hígado (DBP), mientras que otras, como las hormonas tiroideas, insulina y hormona del crecimiento, la disminuyen.

La vitamina D_3 activa actúa como una hormona hipercalcemiante e hiperfosfatemiante, en colaboración muy estrecha con la PTH **(Figura 5)**. Los tejidos diana relacionados con su efecto regulador de la calcemia son hueso, riñón, intestino y glándulas paratiroides. Su principal mecanismo de acción es el típico de las hormonas esteroideas, es decir, interacción con su receptor nuclear, posterior unión al DNA y modulación de la transcripción génica. Más recientemente se ha descrito otro mecanismo, mediante apertura de canales de calcio, en el que estaría implicada la proteína kinasa C.

En el hueso, las células diana directas de la hormona son los osteclastos, sobre los que actúa activándolos y, consecuentemente, estimulando la resorción ósea y la liberación de calcio desde el hueso. En el riñón, actúa sobre las células tubulares, estimulando la reabsorción de calcio y fosfato, lo que contribuye al aumento de los niveles plasmáticos de calcio y fosfato. En el intestino, esta hormona aumenta la absorción de calcio y fosfato. En el paratiroides, la alta concentración de $1,25(OH)_2D_3$ inhibe la liberación de PTH.

La deficiencia de vitamina D_3 activa, o más raramente la de calcio, provoca raquitismo (niños) y osteomalacia (adultos), dos enfermedades óseas que se caracterizan por una inadecuada mineralización de la matriz orgánica del hueso (*ver Capítulos 4.33 y 4.34*). En el Capítulo 1.24 se hace una referencia más amplia de los efectos biológicos de esta vitamina.

8.1.4. Otras hormonas

Otras hormonas, además de las ya descritas, pueden participar en la regulación del metabolismo óseo. Así, el péptido relacionado con la PTH (PTHrP) ejerce unos efectos sobre el hueso muy similares a la PTH (inhibe la formación y estimula la resorción ósea), estando su acción mediada por el AMP cíclico y proteínas kinasas, al igual que la PTH. Este péptido es codificado por un gen que se transcribe en un RNAm que, dependiendo de su procesamiento, al traducirse en los ribosomas, puede dar lugar a tres isoformas diferentes del PTHrP, de 139, 141 y 173 aminoácidos. Todas ellas tienen en común los 139 aminoácidos en su extremo amino-terminal, y es precisamente en este extremo donde, de sus 13 primeros aminoácidos, presentan 8 idénticos a los de la PTH. El PTHrP estimula el transporte de calcio a través de la placenta y, además, actúa junto con la prolactina para promover la formación ósea neonatal, por lo que se piensa que esta hormona puede tener una función especialmente importante durante la vida intrauterina y la lactancia.

El péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) también interviene en el remodelado óseo, estando su acción mediada por el AMP cíclico. Se trata de un péptido codificado por el mismo gen de la CT. El pre-RNA que se transcribe del gen de la CT puede ser procesado por dos caminos, y dependiendo del que siga dará lugar a la CT o al CGRP. En las células paracelulares del tiroides el 95% del preRNA se dirige hacia la síntesis de CT, mientras que en otras células, como, por ejemplo, en el sistema nervioso, el 99% del pre-RNA se traduce dando el CGRP. Ambas hormonas son muy similares en su región amino-terminal, pero difieren en la carboxi-terminal.

La hormona del crecimiento, directa e indirectamente a través del factor de crecimiento insulínico IGF-I, estimula la proliferación de los osteoblastos y la síntesis de la matriz extracelular. Los glucocorticoides y las hormonas tiroideas inhiben la formación ósea y facilitan su resorción, mientras que los estrógenos promueven la apoptosis de los osteoclastos, inhiben la resorción ósea y estimulan la síntesis de CT y la formación de vitamina D activa en el riñón.

8.2. Regulación génica del metabolismo óseo

8.2.1. Regulación de la síntesis y función de los osteoblastos

Dado que los osteoblastos derivan de células mesenquimatosas, existen mecanismos de desarro-

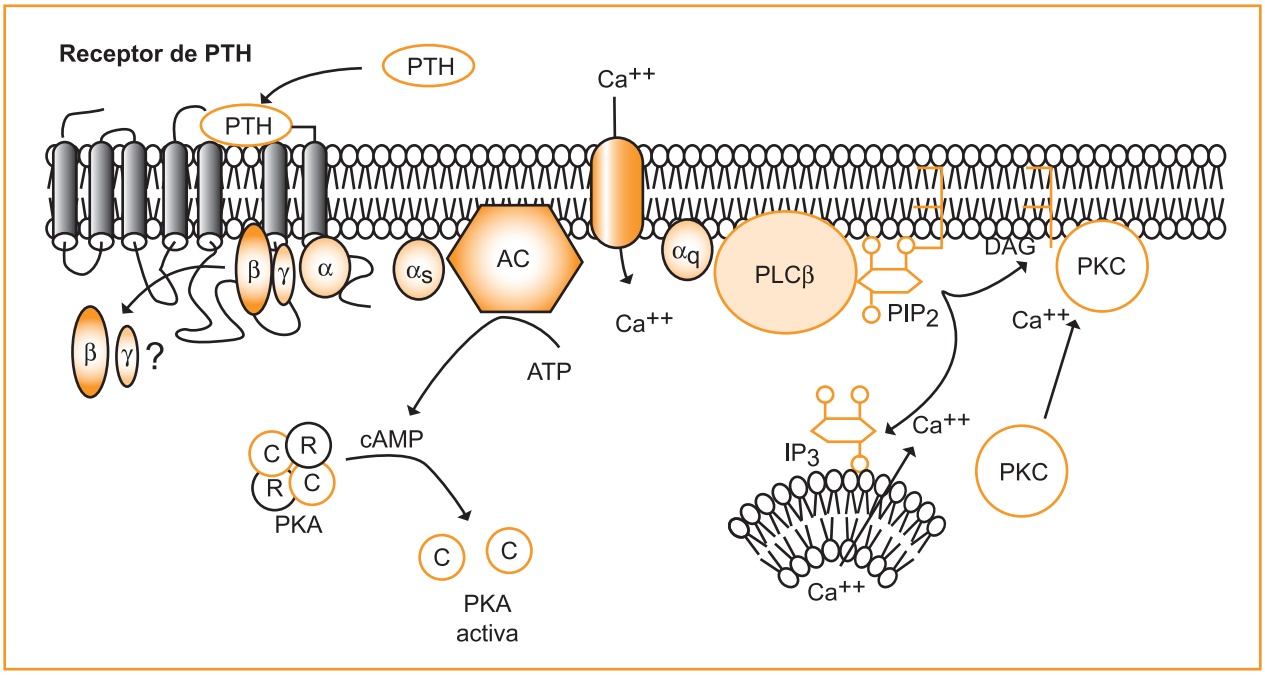


Figura 6. *Transducción de señales mediadas por la PTH. Fuente: Gil Á. Bases moleculares del desarrollo y del metabolismo óseo. En: Díaz Curiel M, Gil Á, Mateix M (eds.). Nutrición y salud ósea, 2004.*

llo activados apropiadamente para controlar el ciclo celular y asegurar que el fenotipo de los osteoblastos difiera del de otras células del mismo origen, tales como los condrocitos y los adipocitos. Los factores de transcripción AP-1, Dlx-5, Msx-2, las proteínas osteogénicas BMP-2 y las citokinas TGFβ-1 son ejemplos de moléculas reguladoras que se expresan temporalmente para mediar en el compromiso de las células progenitoras en su diferenciación hasta osteoblastos, y salvaguardar la síntesis de moléculas necesarias para la proliferación, la formación de matriz y la mineralización.

Por otra parte, los osteoblastos producen numerosos factores reguladores que incluyen prostaglandinas (PG), citokinas y factores de crecimiento, algunos de los cuales se incorporan a la matriz en desarrollo, lo que se traduce en la estimulación de la formación o de la resorción de hueso. Algunos de estos factores, como ocurre con la PTH y la PGE_2, pueden influenciar ambos procesos.

Como células formadoras de hueso, el crecimiento y diferenciación de los osteoblastos están bajo el control de numerosos factores endocrinos, paracrinos y autocrinos. Entre éstos, se encuentran las proteínas morfogénicas del hueso (BMP), IGF-I, TGF-β y otras citokinas, así como las hormonas PTH, GH, T_3, insulina, glucocorticoides, vitamina D activa y fuerzas biomecánicas. Tanto la PTH como el péptido relacionado con la PTH (PTHrP), de forma indirecta, activan los osteoclastos y dan lugar a la resorción ósea. Durante este proceso el fenotipo de los osteoblastos cambia y la célula implicada en la formación de hueso se dirige hacia la resorción.

La activación de los osteoblastos por la PTH da lugar a la expresión de genes importantes para la degradación de la matriz extracelular, producción de factores de crecimiento y estimulación del reclutamiento de osteoclastos. La capacidad de la PTH para llevar a cabo cambios en la expresión génica es dependiente de la activación de factores de transcripción, tales como los de la familia de la proteína activadora-1, RUNX2, y las proteínas de unión al elemento de respuesta a AMP cíclico (CREB). La mayor parte de estos procesos están mediados por la proteína kinasa A. Sin embargo, otros procesos están mediados por la proteína kinasa C y por estimulación de las proteínas kinasas activadas por mitógenos (MAPK). En la **Figura 6** se muestra la señalización celular mediada por la PTH y las vías de transducción de señales implicadas.

Recientemente, se ha propuesto que algunos nucleótidos tales como el ATP y el UTP, liberados

localmente, interaccionando con receptores del tipo P_2, expresados tanto en los osteoblastos como en los osteoclastos, son potentes activadores de las señales de transducción de la PTH y de la activación transcripcional de los osteoblastos. La provisión de un mecanismo de inducción de los osteoblastos, más allá del derivado de la acción de factores sistémicos, puede facilitar el remodelado óseo y explicar la paradoja de por qué algunas hormonas como la PTH ejercen efectos en lugares discretos del hueso.

La hormona del crecimiento (GH), directamente y a través del factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I), estimula la proliferación de osteoblastos y la formación de matriz extracelular, como ya se ha indicado. El efecto de la IGF-I es mediado por la producción por los osteoblastos de proteínas de unión a IGF-I (IGFBP), algunas de las cuales inhiben la acción del IGF-I, como la IGFBP-3 y la IGFBP-4, mientras que la IGFBP-5 aumenta su acción.

La actividad osteoblástica es también estimulada por la T_3, aumentando la producción de osteocalcina (BGP), colagenasa 3 (metaloproteinasa 13 o MMP-13), gelatinasa–B (MMP-9), inhibidor de la MMP-1 (TIMP-1), fosfatasa alcalina, IGF-I, $IGFBP_2$, interleukina 4 (IL-4), IL-6 e IL-8. La acción final de la T_3 es la regulación de la morfología de los osteoblastos, del citoesqueleto y de los contactos celulares, así como la regulación de la síntesis de citokinas y de factores de crecimiento implicados en la actividad de dichas células. Así, la IL-6 y la IL-8 son importantes activadores del proceso de osteoclastogénesis.

Un factor de transcripción denominado factor a1 (Cbfa1) parece ser esencial para la formación de los osteoblastos y, por consiguiente, para la formación del hueso. El gen más específico de los osteoblastos es el de la osteocalcina (*BGP*), que presenta dos elementos *cis* en su promotor, denominados OSE-1 y OSE-2, idénticos a aquellos que se unen a una nueva familia de factores de transcripción, llamados proteínas Runt/CFBA. El dominio Runt, de 128 aminoácidos, está muy bien conservado a lo largo de la evolución. Existen tres genes de este tipo en el hombre, denominados *Cbfa1*, *Cfba2* y *Cbfa3*, este último expresado con ubicuidad.

El *Cbfa2* se expresa en los linfocitos T y B, y está implicado en la organogénesis. El *Cbfa1* se expresa únicamente en osteoblastos. El *Osf2* es un transcrito completo del gen *Cbfa1* que cumple con todas las características de un activador transcripcional de la diferenciación, ya que se une y activa al promotor de la mayoría de los genes expresados en los osteoblastos, y durante el desarrollo se expresa inicialmente en las células mesenquimatosas. Además, sólo se expresa en osteoblastos maduros y no en condrocitos o en otras células del mismo origen. Finalmente, la sobreexpresión de *Osf2* en células no osteoblásticas conduce a la expresión de genes típicamente osteoblásticos, como el de la osteocalcina (*BGP*) y el de la sialoproteína del hueso (*BSP*). La función de este gen no es redundante con otros genes, ya que en ratones deficientes para *Osf2* se observa que el desarrollo de su esqueleto es normal, excepto en que el material formado es exclusivamente cartílago. Por otra parte, se ha descubierto que la displasia cleidocraneal humana se debe a mutaciones por deleción, parada, inserción o sin sentido del gen *Cbfa1*.

El complejo génico de la calcitonina comprende dos genes *a* y *b*, ambos localizados en el cromosoma 11 entre los genes de la catalasa y de la PTH. Los tres primeros exones del gen *a* codifican para el péptido relacionado con la calcitonina (CGRP), y la expresión de los 6 exones completos da lugar a la calcitonina. El gen *b* sólo produce CGRP. El gen de la calcitonina tiene un promotor que dispone de un elemento de respuesta negativa a vitamina D y un elemento de respuesta positiva a AMP cíclico (CRE). La calcitonina inhibe la resorción ósea directamente al causar una pérdida del número de osteoclastos y de su borde rizado, así como de su actividad secretora. El mecanismo depende de la transducción de señales mediada por proteínas G, provocada por la unión con su receptor. La propia calcitonina regula la expresión de su propio receptor en los osteoclastos de manera negativa, a través de un mecanismo transcripcional. La calcitonina también afecta a otros tejidos ya que aumenta la expresión de la 25-hidroxilasa hepática y la 1-α-hidroxilasa renal, que conducen a la formación de Vitamina D activa. El CGRP también interviene en el remodelado óseo a través de vías de transducción de señales que implican al AMP cíclico.

Los glucocorticoides ejercen un efecto supresor sobre la formación de los osteoblastos induciendo su apoptosis. Además, inhiben la acción de las citokinas TGF-β1 y IGF-I, y aumentan la expresión del factor de transcripción del receptor activado

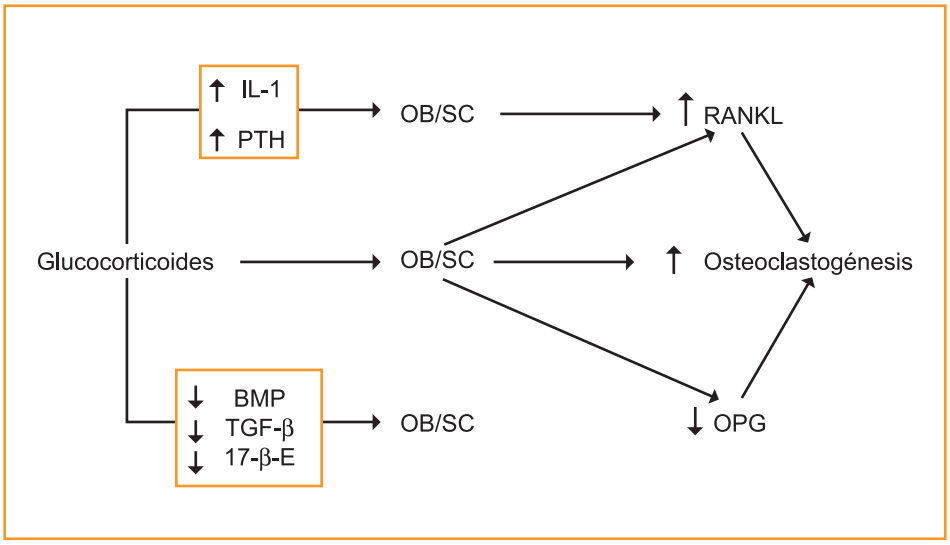


Figura 7. *Inducción de la expresión del sistema RANKL/G-CSF y supresión simultánea de la transcripción del gen* osteoprotegerina (OPG) *mediada por glucocorticoides. Fuente: Gil Á. Bases moleculares del desarrollo y del metabolismo óseo. En: Díaz Curiel M, Gil Á, Mateix M (eds.). Nutrición y salud ósea, 2004.*

por proliferadores de los peroxisomas de tipo γ2 (PPAR-γ2), que inhibe la osteoblastogénesis y participa en la adipogénesis, lo que explica la aparición de grasa en la médula ósea de pacientes tratados durante largo tiempo con corticoides. Asimismo, explica el descenso de la masa mineral en la osteoporosis inducida por corticoides. Finalmente, los glucocorticoides inhiben el gen *bcl-2* (gen de la leucemia/linfoma 2) y altera la relación de los genes *bcl-2*/*bax* implicados en la apoptosis.

8.2.2. Regulación de la síntesis y función de los osteoclastos

Los osteoblastos desempeñan un papel activo en la osteoclastogénesis. Los precursores hematopoyéticos expresan un receptor conocido como RANK -receptor activador del factor nuclear kappa B (NF-κB)-. Este receptor interactúa con un ligando producido por los osteoblastos denominado factor de diferenciación de los osteoclastos (ODF), también conocido como RANKL (ligando de RANK) y TRANCE (citokina inducida por activación relacionada con TNF), cuya expresión parece estar relacionada con la expresión del gen *Cbfa1*. Las células T recién activadas también expresan ODF. La interacción de RANK con su ligando da lugar a la generación de osteoclastos maduros y activos.

Sin embargo, evidencias recientes sugieren la existencia de otros mecanismos implicados en la osteoclastogénesis. Así, existe un antagonista de la interacción de RANK y ODF. Un receptor soluble de la familia de los receptores del factor de necrosis tumoral (TNF), denominado osteoprotegerina (OPG), es capaz de bloquear la interacción de ODF con RANK, de manera que la proporción de ODF/OPG es importante en la regulación de la resorción ósea. Además, existen evidencias de que la mayoría de los factores osteotrópicos que inducen la formación de osteoclastos actúan indirectamente por interacción con receptores de las células del estroma de la médula ósea, que a su vez inducen la expresión de ODF, y que la OPG se utiliza como un agente antiosteoporótico. Así, el sobrenadante de plaquetas estimula la formación de osteoclastos a través de OPG y de un mecanismo dependiente de RANKL.

Los glucocorticoides inducen la expresión del sistema RANKL/G-CSF y suprimen simultáneamente la transcripción del gen *OPG*. Asimismo, ejercen un efecto antiapoptótico sobre los osteoclastos maduros, lo que da lugar a un aumento de la supervivencia y actividad de los osteoclastos. La supresión concomitante de hormona luteinizante y de esteroides sexuales da lugar a un desequilibrio en el sistema RANKL/OPG que favorece la osteoclastogénesis **(Figura 7)**.

Se ha propuesto una cascada génica que controla la diferenciación de los osteoclastos, en la que intervienen dos proteínas segregadas por los osteoblastos y cuatro factores de transcripción **(Figura 8)**. Estudios recientes utilizando microchips de DNA indican que entre la fase de preosteocito y la de preosteoblasto se expresan 47 genes de forma diferencial, la mayor parte de ellos

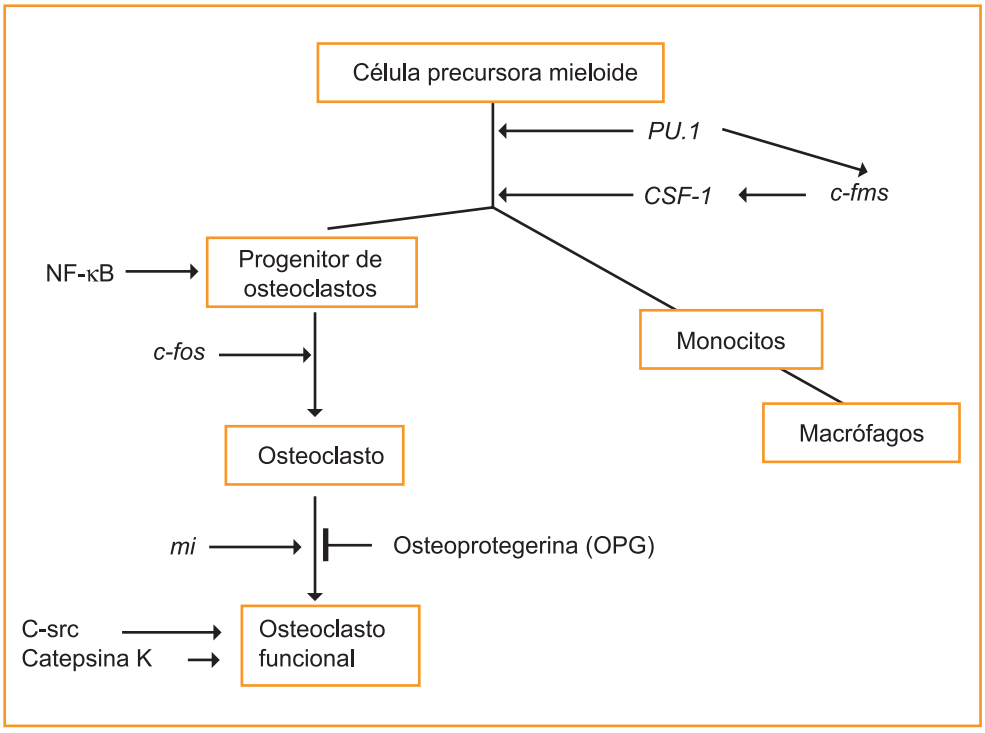


Figura 8. *Cascada génica que controla la diferenciación de los osteoclastos. Gil Á. Bases moleculares del desarrollo y del metabolismo óseo. En: Díaz Curiel M, Gil Á, Mateix M (eds.). Nutrición y salud ósea, 2004.*

relacionados con la síntesis de colágeno tipo I y de enzimas procesadoras del colágeno, que se inhiben. Asimismo, estudios de proteómica durante la diferenciación de los osteoclastos indican que se expresan diferencialmente entre 19 y 23 proteínas.

Hay otras moléculas que afectan a la actividad y función de los osteoclastos, como c-src y catepsina K, muy importantes en el remodelado óseo, pero que no afectan a su diferenciación. El gen que parece actuar en el primer momento de diferenciación de los osteoclastos es el denominado *PU.1*, que cuando se expresa genera un factor de transcripción que controla los procesos de diferenciación de células mieloides, linfocitos B, macrófagos y osteoclastos. Los animales deficientes en *PU.1* muestran una severa osteopetrosis con ausencia de osteoclastos y de macrófagos. El gen *PU.1* parece controlar la expresión de otro gen, *c-fms*, necesario para la diferenciación osteoclástica. Este gen codifica para un factor de crecimiento, denominado CSF-1 (factor estimulador de colonias-1), necesario para la maduración de los macrófagos y para la diferenciación de los precursores mieloides hasta progenitores de los osteoclastos. Anteriormente, se ha mencionado que la OPG inhibe la diferenciación de los osteoclastos. La sobreexpresión de OPG en animales transgénicos genera un fenotipo de osteopetrosis con existencia de precursores osteoclásticos, lo que indica que la OPG actúa en un estadio más tardío de la diferenciación de los osteoclastos.

Otros factores que actúan tardíamente en el desarrollo de los osteoclastos son el protooncogén *c-fos*, un homólogo del gen viral *v-fos* que produce un osteosarcoma, que expresa parte del factor de transcripción AP-1. La alteración de este gen conduce a osteopetrosis con presencia de macrófagos, lo que indica que actúa más tarde que el gen *PU.1*. Asimismo, la alteración de las subunidades p50 y p52 del NFκB da lugar a la formación de osteopetrosis y ausencia de osteoclastos y de células B. Finalmente, existe otro gen, cuya mutación genera microoftalmia y osteopetrosis, denominado *mi*, que codifica para un factor de transcripción de la familia BHLH, y que actúa más tarde que los genes *PU.1* y *c-fos*, ya que en animales mutantes hay osteoclastos pero no se produce la resorción de hueso **(Figura 8)**.

La formación y expansión del borde rizado de la membrana plasmática de los osteoclastos, lugar donde tiene lugar la resorción ósea **(Figura 4)**, depende de la molécula de adhesión denominada integrina aVb3. Por otra parte, la ATP-asa vacuolar (V-ATP-asa), que está insertada en el borde rizado de la membrana plasmática, es una bomba de protones encargada de suministrar grandes cantidades de equivalentes de ácido para solubilizar la hidroxiapatita. Los protones son generados por la

acción de la anhidrasa carbónica II, una enzima citoplasmática que convierte el dióxido de carbono en bicarbonato y protones. Para mantener la neutralidad eléctrica, a la vez, existe un gran flujo de aniones, especialmente de cloruro, que salen al exterior mediante canales del tipo ClC-7. El mantenimiento del borde rizado de los osteoclastos se debe a un equilibrio entre exocitosis y endocitosis.

Otras proteínas importantes en la función de los osteoclastos son la fosfatasa ácida lisosomal (LAP) y la fosfatasa resistente al ácido tartárico (TRAP). En animales mutantes para estas dos proteínas se observan importantes deformaciones óseas y malformaciones de la columna vertebral torácica. Otra proteína importante en la función de los osteoclastos es la enzima lisosómica catepsina K, que se encarga de digerir fibras nativas de colágeno a pH ácido y, por tanto, es necesaria para la resorción ósea; así, la ausencia de catepsina K conduce a la aparición de una enfermedad denominada picnodisistosis. Además, están presentes varias metaloproteasas tales como la MMP-1, MMP-9 y MT1-MMP, todas ellas implicadas en la degradación de los osteoclastos. La inactivación de las proteínas necesarias para la acidificación extracelular o de las proteasas implicadas en la degradación de la matriz conduce a la osteopetrosis, una enfermedad caracterizada por la formación de huesos muy densos.

El remodelado óseo depende de la capacidad de los osteoblastos de regular la diferenciación y actividad de los osteoclastos, así como de formar hueso. Además de producir compuestos formadores de la matriz, especialmente moléculas de colágenos diversos tales como el tipo I, que constituye el 95% de las proteínas de dicha matriz, los osteoblastos median la función de los osteoclastos mediante moléculas reguladoras solubles expresadas en su superficie e incorporadas en la matriz extracelular.

Las BMP, excepto la BMP-1, pertenecen a la familia de factores de crecimiento del tipo TGF-β (factores transformadores del crecimiento). Existen al menos 15 BMP diferentes y todas ellas tienen la capacidad de inducir la formación de hueso ectópico y de potenciar la diferenciación de los osteoblastos en cultivo de tejidos. Por consiguiente, su potencial terapéutico es innegable, en circunstancias tales como la osteoporosis, en las que existe pérdida de masa ósea. Muchas de estas proteínas no sólo están implicadas en el desarrollo óseo sino que también participan en numerosos procesos de organogénesis durante el desarrollo embrionario, controlando la proliferación celular y la apoptosis. Las proteínas BPM4, BMP5, BMP7, GDF5 y GDF6 son las que desempeñan un papel más importante en el desarrollo de elementos esqueléticos.

Por otra parte, la síntesis del mismo TGF-β2 está aumentada en los osteoblastos, dando lugar a un fenotipo marcadamente osteogénico que conduce a la diferenciación de los osteoblastos. Las BMP actúan por unión a receptores del tipo serina/treonina kinasa, que consecuentemente activan moléculas Smad por fosforilación. Estas Smads translocan al núcleo, donde modulan la transcripción de genes específicos (*ver Capítulo 1.5*).

Los osteoclastos, después de haber resorbido el hueso, mueren por apoptosis. Algunos agentes que bloquean la resorción ósea, como los bisfosfonatos y la OPG, inducen la apoptosis de los osteoclastos. Igualmente ocurre con otros reguladores de la actividad osteoclástica, como los estrógenos y el TGF-β.

9. Resumen

- A lo largo de este Capítulo se describen aquellos aspectos más interesantes de cuatro minerales, el calcio, el fosfato, el magnesio y el fluoruro, incluyendo su contenido y localización en el organismo, las principales funciones que desempeñan, especialmente aquellas relacionadas con el hueso y los dientes, los procesos de absorción, metabolismo y excreción, las ingestas recomendadas y fuentes alimentarias, así como las posibles causas y efectos de la carencia y el exceso de los mismos. Los cuatro minerales incluidos en este Capítulo tienen en común que mayoritariamente se localizan en los tejidos mineralizados, huesos y dientes. Estos minerales participan en la integridad estructural del organismo, pero, además de tener un papel fundamental en la formación y mantenimiento de los huesos y dientes, son esenciales en numerosos procesos metabólicos que ocurren en todas las restantes células del organismo.

- Se describe, asimismo, el complejo y preciso sistema de regulación que controla la concentración del calcio, entre unos márgenes muy estrechos, tanto en el medio extracelular (calcemia) como en el intracelular. Esta precisa regulación, llevada a cabo por el sistema endocrino, permite el equilibrio dinámico del catión entre los distintos compartimentos corporales, de forma que el calcio disuelto del medio extracelular y parte del que se encuentra en el hueso son intercambiables, unos 500 mg de calcio entran y salen de los huesos diariamente. La concentración plasmática de fosfato también se encuentra regulada, al igual que la de los restantes iones, pero no de una forma tan precisa.

- Las principales hormonas sistémicas que regulan el equilibrio dinámico del calcio entre los diferentes compartimentos corporales, y al mismo tiempo modulan las actividades de formación y remodelación óseas, son: la hormona paratiroidea, la calcitonina y la vitamina D. Todas ellas participan en el mantenimiento de la constancia de la concentración plasmática de calcio. Para ello, ejercen su acción no sólo sobre el hueso, sino también sobre el intestino y el riñón. Existen también otras hormonas que participan, en menor medida, en la regulación del metabolismo óseo y en la homeostasis del calcio y fosfato: glucocorticoides, péptido relacionado con la PTH (PTHpr), péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), estrógenos, prolactina, insulina, hormonas paratiroideas, hormona de crecimiento (GH), factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I), y otros factores de crecimiento.

- El crecimiento óseo en tamaño y forma se lleva a cabo a través de la cooperación de células responsables de la formación, mineralización y resorción de la matriz ósea. Los osteoblastos son los encargados de producir la matriz celular y facilitar la mineralización, mientras que los osteoclastos, células multinucleadas especializadas, llevan a cabo la resorción del hueso.

- La regulación endocrina y génica de la síntesis, metabolismo y apoptosis de los osteoblastos y osteoclastos incluye un elevado número de factores endocrinos, paracrinos y autocrinos. El conocimiento de las bases moleculares y celulares de la formación, mineralización, modelación y remodelación óseas, y de los principales factores génicos implicados en la regulación local de estos procesos, será fundamental para la prevención y tratamiento de diferentes enfermedades óseas.

10. Bibliografía

Fox SI. Regulación del metabolismo. En: Fox SI (ed.) Fisiología humana, 7ª ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 2003: 622-55.
Texto que incluye una parte de capítulo dedicado al metabolismo del tejido óseo.

Gil Á. Bases moleculares del desarrollo y del metabolismo óseo. En: Díaz Curiel M, Gil A, Mataix J (eds.). Nutrición y salud ósea. Instituto Omega 3 y Fundación Hispana de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas. Madrid, 2004.
Capítulo actualizado sobre las bases moleculares y la regulación génica del metabolismo óseo.

Guyton AC, Hall JEH. Hormona paratiroidea, calcitonina, metabolismo del calcio y del fosfato, vitamina D, huesos y dientes. En: Guyton AC, Hall JEH (eds.). Tratado de fisiología médica, 10ª ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 2001: 1081-100.
Capítulo dedicado a la composición, estructura y metabolismo del tejido óseo.

Jilka RL. Biology of the basic multicellular unit and the pathophysiology of osteoporosis. Med Pediatr Oncol 2003; 41: 182-5.
Revisión actualizada de los mecanismos moleculares implicados en el crecimiento, la diferenciación y el desarrollo de las células óseas.

Marín JF, Pérez-Llamas F, Zamora S. Minerales. En: Pérez-Llamas F, Zamora S (eds.). Nutrición y alimentación humana. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia. Murcia, 2002: 69-83.
Capítulo de libro muy actualizado de fácil lectura para el alumno en el que se describen las características básicas de los minerales.

Mataix J. Nutrición y alimentación humana. Tomo I. Ergon. Madrid, 2002.
Texto muy actualizado que incluye dos temas dedicados a minerales y vitaminas, donde se describen ampliamente todas las características de ambos grupos de micronutrientes.

Pérez-Llamas F, Marín JF, Zamora S. Vitaminas. En: Pérez-Llamas F, Zamora S (eds.). Nutrición y alimentación humana. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia. Murcia, 2002: 85-100.

Capítulo de libro muy actualizado de fácil lectura para el alumno en el que se describen las características básicas de las vitaminas.

Pérez R, Segura MC. Regulación del metabolismo mineral: PTH, calcitonina y vitamina D. En: Diéguez C, Yturriaga R (eds.). Metabolismo fosfocálcico. Actualizaciones en endocrinología-9. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 2003: 1-23.
Capítulo actualizado que describe con detalle la regulación endocrina y génica del metabolismo óseo.

Prieto S. Fisiología del hueso. En: Tresguerres JAF (ed.). Fisiología humana, 2ª ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 1999: 994-1004.
Capítulo dedicado a la composición, estructura y metabolismo del tejido óseo.

Rhoades RA, Tanner GA. Regulación endocrina del calcio y el fósforo, y metabolismo óseo. En: Rhoades RA, Tanner GA (eds.). Fisiología médica. Masson-Little, Brown, SA. Barcelona, 1997: 839-54.
Capítulo dedicado a la composición, estructura y metabolismo del tejido óseo.

Rico H. La formación ósea: su modelación y remodelación. En: Diéguez C, Yturriaga R (eds.). Metabolismo fosfocálcico. Actualizaciones en endocrinología-9. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 2003: 25-35.
Capítulo actualizado que describe con detalle los diversos procesos metabólicos que tienen lugar en el hueso.

11. Enlaces web

- www.pslgroup.com/osteoporosis.htm
- www.osteo.org
- www.healthcyclopedia.com/nutrition-and-metabolism-disorders/vitamins-and-minerals.html
- www.fao.org/docrep/W7336T/W7336T00.htm
- www.infomedica.com.ar/info-medica/numero4/calcio.htm
- www.canalsalud.com/vivirenforma/dietetica/orgaminerales.htm

1.28. Hierro

Antonio Muñoz Hoyos ■ Antonio Molina Carballo

Capítulo 1.28.

Hierro

1. Introducción

2. Metabolismo del hierro

2.1. Regulación de la absorción y transporte del hierro

2.2. Compartimentos del hierro corporal

2.2.1. Hierro funcional

2.2.2. Hierro de transporte

2.2.3. Hierro de reserva

2.3. Balance del hierro

2.3.1. Biodisponibilidad del hierro en el organismo

2.3.2. Excreción

2.3.3. Requerimientos

2.4. Modificaciones de la distribución del hierro durante el desarrollo

2.4.1. Feto y recién nacido

2.4.2. Lactante (1-24 meses)

2.4.3. Preescolar, escolar y preadolescente

2.4.4. Adolescente

2.4.5. Adulto

3. Deficiencia de hierro

3.1. Causas

3.1.1. Ingreso insuficiente

3.1.2. Aumento de las necesidades

3.1.3. Pérdida excesiva

4. Manifestaciones clínicas relacionadas con la carencia férrica

4.1. Clínica hematológica

4.2. Clínica digestiva

4.3. Repercusión sobre el crecimiento

4.4. Repercusión sobre el SNC

4.4.1. Deficiencia de hierro en distintas edades y desarrollo cognitivo

4.5. Repercusión sobre la capacidad y habilidad física

4.6. Repercusión sobre el sistema inmune

4.7. Repercusión de la anemia ferropénica materna sobre el feto

5. Diagnóstico de la carencia de hierro

5.1. Tests diagnósticos

5.2. Tests confirmatorios

5.2.1. Sideremia

5.2.2. Capacidad de fijación del hierro

5.2.3. Índice de saturación de la transferrina
5.2.4. Ferritina sérica
5.2.5. Protoporfirina eritrocitaria libre
5.2.6. Receptor soluble de la transferrina
5.3. Criterios de déficit de hierro en la infancia
5.4. Prevalencia del déficit de hierro
5.5. Prevención de la carencia férrica
5.5.1. Prevención en la infancia
5.5.2. Prevención y tratamiento en embarazadas
5.5.3. Recomendaciones en mujeres en edad fértil
5.6. Modalidades de tratamiento del déficit de hierro
5.6.1. Hierro oral
5.6.2. Hierro parenteral

6. Hierro y estrés oxidativo
6.1. Regulación del hierro a nivel cerebral
6.1.1. Hierro como cofactor de las enzimas redox
6.1.2. Hierro y estrés oxidativo cerebral

7. Resumen

8. Bibliografía

9. Enlaces web

Objetivos

- Conocer las funciones fisiológicas del hierro.
- Entender la importancia de la ferropenia y de la anemia ferropénica en el mundo.
- Conocer los puntos esenciales del metabolismo del hierro, fundamentalmente en su relación con el desarrollo de ferropenia y/o anemia.
- Identificar los mecanismos y causas implicadas en la ocurrencia de la anemia ferropénica.
- Comprender la interrelación entre los mecanismos patogénicos y los métodos de diagnóstico de la anemia ferropénica.
- Conocer los periodos vitales de mayor susceptibilidad al desarrollo de ferropenia y/o anemia.
- Aprender las estrategias para prevenir y tratar la anemia ferropénica.
- Tener presente la posible toxicidad del hierro y los mecanismos esenciales conocidos que pueden provocarla.

1. Introducción

El hierro es un oligoelemento mineral necesario para una amplia variedad de funciones biológicas, desde el transporte de oxígeno y la oxidación mitocondrial hasta la síntesis de dopamina y DNA. Aunque el hierro ferroso (Fe^{2+}), soluble, estaba ampliamente disponible cuando las primeras formas de vida se desarrollaron, buena parte del abundante hierro presente en la tierra se ha oxidado desde entonces a una forma férrica (Fe^{3+}), debido al oxígeno atmosférico. Múltiples proteínas del organismo precisan de una captación de hierro suficiente y apropiada para cubrir las necesidades celulares y del organismo. Pero, además, las proteínas responsables de su transporte y secuestro deben captarlo para evitar que el hierro en estado libre reaccione con especies de oxígeno generando los dañinos radicales libres.

Desde la perspectiva nutricional, como oligoelemento esencial implicado en el transporte de oxígeno, su carencia en la dieta se traduce en la presencia de anemia. La sintomatología clínica del déficit de hierro se conoce desde antes de la Edad Media, con estupendos relatos de una entidad denominada clorosis, que afectaba a chicas adolescentes ferropénicas, y que desapareció antes de la II Guerra Mundial a pesar de que no siempre se administrara hierro para tratarla. Estimaciones recientes acerca de la prevalencia de ferropenia y de anemia indican que el 46% de los niños entre 5 y 14 años padecen anemia, y que la gran mayoría de ellos viven en países en vías de desarrollo, siendo la malaria y el déficit de hierro los factores etiológicos fundamentales.

La deficiencia de hierro sigue siendo el déficit nutricional más frecuente en países industrializados a pesar de las mejoras en la dieta. Por ejemplo, recientemente se ha estimado que padecen anemia ferropénica el 3% de los preescolares y entre el 2 y el 5% de las adolescentes en los Estados Unidos de América. La infancia y la niñez se consideran periodos de alta susceptibilidad para la carencia férrica debido generalmente al aumento de los requerimientos para soportar el crecimiento. Además, el 48% de las embarazadas padece anemia, porcentaje que se eleva al 56% en embarazadas del Tercer Mundo.

Independientemente de su causa, la definición de anemia es la constatación de una concentración baja de hemoglobina. Si la causa es un déficit de hierro, por definición el individuo tendrá unas bajas reservas de hierro, ferritina plasmática baja o descenso de hierro teñible en médula ósea, baja saturación de transferrina, con aumento de protoporfirina eritrocitaria libre y de la concentración del receptor

sérico de transferrina. El resultado es una reducción en la capacidad de transporte de oxígeno con descenso de su aporte a los distintos tejidos y descenso de la capacidad oxidativa a nivel celular. El proceso que lleva a la depleción de hierro puede desarrollarse rápidamente o muy lentamente y depende del balance entre la ingesta y los requerimientos.

Aun sin anemia, la ferropenia conlleva manifestaciones sistémicas a nivel de distintos órganos y aparatos, además de las hematológicas más conocidas, incluso en estadios precoces de la misma. Por ello, es considerado como un auténtico problema de salud que es preciso detectar y prevenir.

Muchos órganos muestran cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos en relación directa con el *turnover* de las proteínas esenciales que contienen hierro, y en ocasiones incluso antes de que ocurra un descenso significativo de la concentración de hemoglobina. El déficit de hierro se asocia a una alteración metabólica que incluye el transporte mitocondrial de electrones, síntesis proteica y de neurotransmisores, la organogénesis y otras.

El balance de hierro es la diferencia entre su retención y los requerimientos. La retención o absorción es producto de la ingesta y la biodisponibilidad del hierro dietético, suplementario o contaminante. El exceso de hierro por encima de los requerimientos diarios se almacena en la ferritina, y está disponible para subvenir las necesidades celulares de hierro, si la ingesta diaria llega a no resultar suficiente. Cuando el balance negativo persiste, las reservas caen y el aporte hacia los compartimentos esenciales de hierro disminuye. La repercusión funcional tiene lugar sobre el transporte de oxígeno, metabolismo oxidativo, metabolismo nuclear y sobre la transcripción genética. Las consecuencias clínicas incluyen anemia, descenso de la función inmune y menor capacidad de trabajo. La deficiencia de hierro, aun en el primer trimestre, puede conllevar consecuencias sobre el feto.

2. Metabolismo del hierro

2.1. Regulación de la absorción y transporte del hierro

Los varones adultos sanos poseen unas reservas de 35-45 mg/kg peso de hierro, cantidad algo menor en mujeres premenopáusicas, debido a la pérdida menstrual repetida. Más de 2/3 del contenido en hierro se incorpora a la hemoglobina presente en las células precursoras de la serie eritrocítica y en los glóbulos rojos maduros, razón por la cual la anemia es el signo primordial de la deficiencia de hierro. Cada eritrocito contiene 1.000 millones de átomos de hierro, que al ritmo habitual de recambio (*turnover*) supone la incorporación de 2×10^{20} átomos de hierro por día. La mayor parte del hierro restante se localiza en los hepatocitos y en los macrófagos del sistema retículo-endotelial (SRE), que sirven como almacenamiento. El hígado capta parte del hierro circulante que excede de la capacidad de unión de la transferrina. Acaba de proponerse que por resonancia magnética nuclear (RMN) se pueden cuantificar fielmente los depósitos hepáticos, aceptada la escasa especificidad de la medición de ferritina.

Actualmente, la cuantificación más fiable del contenido de hierro se hace por histología o bioquímica en una biopsia hepática, pero se reserva para las patologías hepáticas por ser una técnica invasiva. Debido a las propiedades paramagnéticas del hierro, su señal por RMN disminuye conforme su concentración hepática aumenta, lo que convierte esta técnica en un método simple y rápido para la detección y cuantificación de los depósitos hepáticos de hierro, especialmente en pacientes con sobrecarga ligera. Una unidad de RMN de elevado campo magnético, con el empleo de un algoritmo de cálculo (disponible en http://www.radio.univ-rennes1.fr), identifica todas las sobrecargas de hierro mayores de 60 μmol/g, un umbral suficiente, teniendo en cuenta que, en la mayoría de las patologías hepáticas con sobrecarga de hierro, ésta se sitúa en un rango entre 60 y 375 μmol/g.

La regulación de la captación de hierro por la mucosa intestinal es crucial para la homeostasis del hierro, puesto que el organismo carece de un mecanismo eficiente para su excreción desde la circulación sistémica. Las células epiteliales de la mucosa dudodenal son sensibles al estado de las reservas corporales de hierro, siendo capaces de regular adecuadamente el transporte desde el intestino hasta la circulación, aunque una vez captado puede aún ser excretado con la descamación de las células intestinales tras 72 horas. El hierro no es internalizado de modo efectivo

hasta que es transportado por los sistemas "transportador divalente de metales" (DMT-1) o "transportador de cationes divalentes" (DCT-1) a través de la superficie basolateral de las células de la mucosa intestinal, incorporándose a la circulación sanguínea.

El DMT-1 forma un canal transmembrana a través del cual penetran los metales iónicos divalentes como el hierro, manganeso, cobalto, cobre, zinc, cadmio y plomo. En la deficiencia de hierro se puede demostrar un incremento de la concentración de mRNA-DMT-1 en las células intestinales epiteliales, y de DMT-1, mediante inmunohistoquímica en la mucosa apical. Se desconoce el sistema de transporte desde el lado citosólico de la membrana plasmática apical hasta el de la membrana basolateral. El transporte desde el citosol hasta la circulación es realizado por la ferroportina o proteína-1 de transporte de metales (MTP1), que al igual que el DMT-1 incrementa su transcripción en caso de deficiencia de hierro. En el transporte también interviene una ferroxidasa con múltiples iones de cobre, unida a la membrana, conocida como hefaestina (HFE), que posee una secuencia de aminoácidos con un 45% de identidad con la ferroxidasa sérica, ceruloplasmina, y difere de ella en que se ancla a la membrana por un único dominio. Probablemente, el hierro es captado en forma ferrosa, y oxidado por la hefaestina a forma férrica, uniéndose después a la proteína sérica transportadora de hierro férrico, transferrina.

En condiciones normales no se detecta hierro libre en suero debido a la abundancia de transferrina ($\simeq$ 20 mmol/l), que liga con gran afinidad dos iones férricos por cada molécula. El hierro va perfectamente acoplado a sus receptores de forma que carezca de reactividad química y el tamaño de la transferrina evite su pérdida por filtración renal. Los tejidos periféricos ligan la transferrina circulante y la internalizan. En caso de escasas reservas de hierro tisular, se aumenta la síntesis del receptor de la transferrina (RTf), que es una proteína homodimérica presente en la membrana plasmática.

En el duodeno el RTf está localizado en las criptas de la mucosa intestinal, donde también se encuentra la hefaestina, que si se llega a unir al RTf disminuye su afinidad por la transferrina. Inversamente, la proteína HFE mutada es incapaz de unirse al RTf, que queda disponible para fijar la transferrina permitiendo la captación y depósito en las células intestinales. El complejo RTf-transferrina se invagina formando endosomas, que, tras acidificarse a pH 5,5, liberan el hierro al citosol, que se incorpora al *pool* lábil intracelular y de aquí a moléculas como la ferritina, o se destina a la síntesis del grupo hemo en las mitocondrias. A pH ácido la apoferritina (ferritina sin hierro) tiene una alta afinidad por el Rtf y dicho complejo escapa de la digestión de enzimas lisosomales y regresa a la superficie celular. A pH fisiológico, la afinidad del receptor por la transferrina se pierde, las dos moléculas se separan y la apotransferrina vuelve al plasma. La duración de todo este ciclo intracelular de la transferrina y su receptor se estima entre 3 y 16 minutos. Un tercio del RTf se encuentra en la superficie celular y los 2/3 restantes están implicados en los fenómenos de endocitosis. La vida media del receptor oscila, según el tipo de célula, desde 14 horas hasta 3 días.

El complejo apotransferrina-RTf se recicla en la membrana plasmática, disociándose la apotransferrina a pH neutro, y dejando libre el RTf para intervenir en otro ciclo de captación de hierro. Por tanto, en condiciones normales, cada célula puede regular eficazmente su autocaptación de hierro mediante la expresión de RTf.

El hierro transportado por la transferrina entra en el interior de las células **(Figura 1)**, gracias a la unión de ésta con su receptor específico (RTf) situado en la superficie celular, una proteína presente en la membrana de todas las células a excepción de los hematíes maduros. Una forma truncada o incompleta (soluble) del receptor está presente en suero de sujetos sanos, siendo su concentración reflejo de la cantidad de receptor en la membrana. En el adulto normal, alrededor del 80% del RTf se encuentra en la serie eritrocitaria de la médula ósea, aumentando en situaciones de incremento de la eritropoyesis. Otros tejidos ricos en receptores son la placenta, el hígado, criptas del intestino, páncreas y testículos. Asimismo, se expresa en la superficie de células tumorales, por la necesidad de captar hierro para enzimas esenciales para la formación de nuevas células.

El RTf es una glicoproteína transmembrana de estructura dimérica, con un peso molecular de 190 kDa. Cada monómero posee 3 dominios: extracelular (671 aminoácidos, con el extremo carboxi-terminal), dominio transmembrana

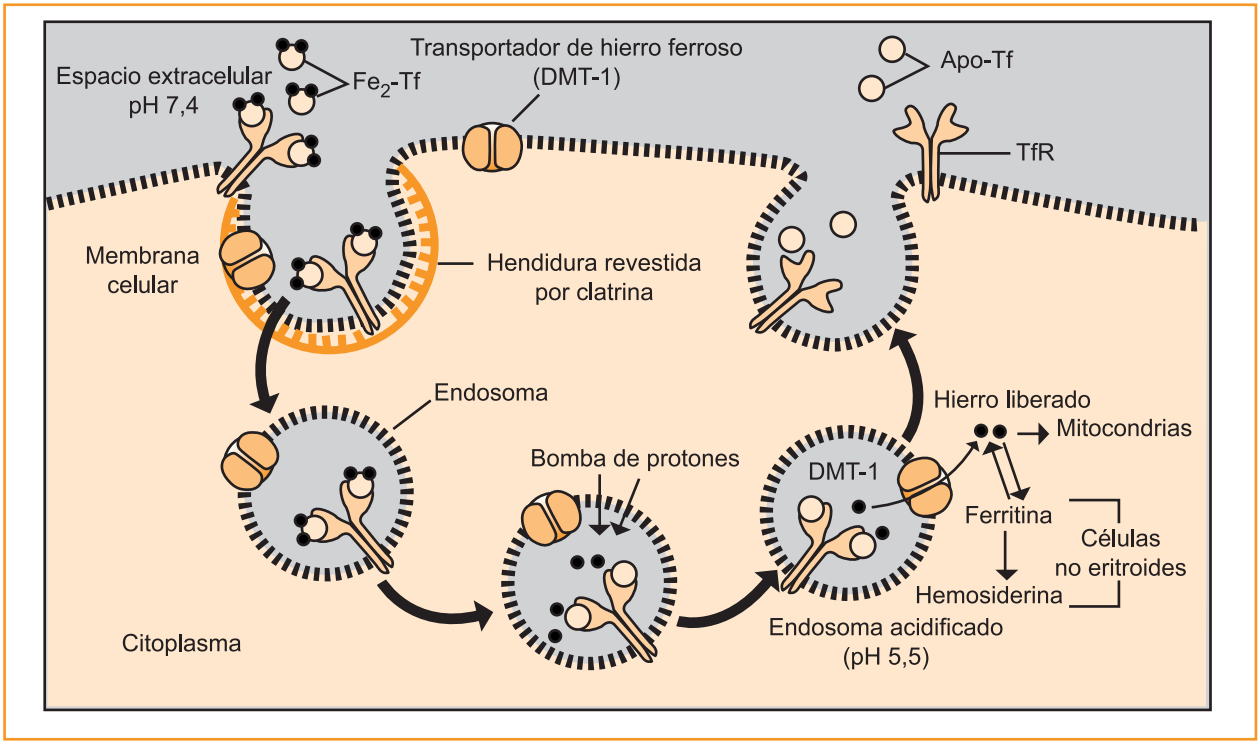


Figura 1. *Captación de la transferrina por su receptor. Fuente: modificado de Andrews N. Disorders of iron metabolism.* N England J Med *1999; 341: 1986-95.*

(28 aminoácidos) y el intracitoplásmico (con el extremo amino-terminal y 61 aminoácidos). La síntesis del RTf está codificada en el cromosoma 3 (3q29), cerca del gen de la transferrina, y es regulada primordialmente por contenido intracelular de hierro, puesto que su densidad en la superficie celular aumenta en caso de déficit de hierro.

A partir del contenido de hierro intracelular, la regulación de la síntesis del receptor de la transferrina a nivel postranscripcional está estrechamente ligada a la síntesis de la ferritina, con la participación de las secuencias IRE (***I**ron **R**esponse **E**lement*) y las proteínas IRP (***I**ron **R**esponse **P**roteins*). Los IRE son secuencias de oligonucleótidos con forma en tallo de bucle localizados en los extremos no traducidos de los mRNA que codifican la síntesis de ferritina y del receptor de la transferrina. Las IRP son proteínas citoplasmáticas que reconocen y se unen a las regiones IRE. Se han identificado dos. La IRP-1, que al unirse a los clusters 4Fe-4S adquiere actividad aconitasa y pierde afinidad por los IRE, sería la forma predominante cuando el contenido de hierro intracelular es normal. Cuando no está unida a clusters 4Fe-4S tiene una gran afinidad por los IRE. La IRP-2, con estructura y función similar, no posee actividad aconitasa.

La unión de las IRP a las secuencias IRE en posición 5' del mRNA que codifica la síntesis de la ferritina produce una inactivación de la traducción y, en consecuencia, una disminución de la síntesis de ferritina. Por su parte, la unión de las IRP a las secuencias IRE dispuestas en el extremo 3' del mRNA que codifica la síntesis del receptor de la transferrina produce su estabilización con un aumento de la traducción y un aumento en la síntesis de receptor.

Cuando el hierro intracelular es bajo, la IRP se une a la secuencia IRE en posición 5' del mRNA que codifica la síntesis de ferritina y a las IRE en posición 3' del mRNA que codifica la síntesis del receptor, provocando una disminución en la formación de ferritina y un aumento en la síntesis del receptor. En situaciones de contenido intracelular de hierro normal o alto, actuaría la forma IRP de baja afinidad ligada al clúster 4Fe-4S, induciendo la traducción del mRNA en ferritina y la degradación del mRNA del receptor de transferrina (*ver Capítulos 1.7 y 1.31*).

El RTf de membrana es una proteína indispensable para la introducción del hierro en la célula. La carga de hierro de la transferrina ejerce un papel fundamental en la capacidad de unión a su receptor, puesto que la constante de asociación de la transferrina diférrica es de 30 a 500 veces más elevada que la de la transferrina monoférrica o la de la apotransferrina. Por lo tanto, el hierro captado desde el complejo RTf-transferrina procede fundamentalmente de la transferrina diférrica. Cada molécula de receptor se une a 2 moléculas de transferrina, introduciendo en la célula 4 átomos de hierro.

Recientemente, se ha descubierto la existencia de otra proteína transmembrana que puede unir la transferrina: el receptor de la transferrina tipo 2 (RTf-2), con un 66% de similitud con el RTf y que se encuentra casi exclusivamente en el hígado. El gen responsable de su síntesis se encuentra en el cromosoma 7 (7q22), habiéndose encontrado su mutación en la hemocromatosis tipo 3.

La dinámica del hierro citosólico hasta incorporarse a las distintas proteínas y organelas es muy poco conocida. El hierro en exceso en la célula no puede permanecer libre para evitar su toxicidad y se almacena como ferritina, una proteína citosólica heterodimérica soluble con forma de esfera con 24 subunidades.

Cada molécula de ferritina almacena miles de átomos de hierro como precipitados insolubles con un centro vacío. Por otro lado, muchos tipos de células (hepatocitos, célular renales, macrófagos…) expresan el exportador de hierro, ferroportina. Mediante la regulación de la expresión de RTf, ferritina y ferroportina, las células previenen el acúmulo excesivo de hierro. El hierro absorbido es reciclado y reutilizado múltiples veces, con la participación esencial de los macrófagos (que expresan en su superficie tanto ferroportina como ceruloplasmina), recuperando el hierro elemental de la hemoglobina presente en los eritrocitos fagocitados.

En la fagocitosis eritrocitaria una proteína esencial es la hemo-oxigenasa, que metaboliza el hemo produciendo biliverdina y hierro libre. Los macrófagos procesan y devuelven a la circulación hasta 30 mg de hierro cada día, mientras que la captación intestinal sólo supone 1 mg/día, para compensar las pérdidas por sangrado y por la descamación intestinal. Se desconoce qué mecanismos regulan la cantidad de hierro que permanece libre o la que se almacena en los macrófagos.

La absorción se hierro es regulada por mecanismos directos e indirectos, que básicamente se pueden resumir en los siguientes puntos:

1. Regulador dietético. Hasta varios días tras la ingesta de un bolo de hierro, los enterocitos son resistentes a la absorción de hierro adicional, probablemente debido al exceso de hierro intracelular, aún en presencia de déficit sistémico.

2. Regulador de reservas. De base molecular desconocida, parece actuar en respuesta a la saturación de la transferrina plasmática, puesto que la concentración de DMT-1 se modifica en respuesta a la reservas de hierro corporal. Multiplica por un factor de 2 o 3 la cantidad de hierro absorbida en circunstancias basales.

3. Regulador eritropoyético. No depende de las reservas sino de las necesidades para la eritropoyesis, aumenta la absorción con mayor potencia que el regulador de las reservas, por alguna sustancia que es transportada en el plasma desde la médula ósea hasta el intestino. Aparte del déficit de hierro, las formas de anemia (talasemias, anemias diseritropoyéticas y sideroblásticas) con eritropoyesis ineficaz aumentan la absorción de hierro, mientras otras anemias con similar tasa de eritropoyesis (esferocitosis hereditaria, anemia hemolítica autoinmune, drepanocitosis) no lo hacen, puesto que la destrucción eritrocítica ocurre fuera de la médula ósea.

4. En respuesta a la hipoxia. Desconociéndose si la señal de la hipoxia es transmitida por alguna de las tres vías arriba indicadas, o por un mecanismo independiente.

Aunque la tasa de eritropoyesis (punto 3, más arriba) no es un regulador directo de la absorción de hierro, si aumenta la eritropoyetina también lo hace la captación de hierro por la médula ósea, cae la saturación de transferrina y consecuentemente aumenta la absorción. La absorción de hierro es mayor en los periodos de rápido crecimiento, como el embarazo, la lactancia y adolescencia, por mayor demanda y captación tisular. Otras situaciones fisiológicas que modifican la absorción de hierro son la aclorhidria y las secreciones pancreáticas. La aclorhidria disminuye la absorción de hierro no hemo, puesto que el hierro es liberado de los alimentos por el ácido clorhídrico, por lo que, cuanto más se retrase el vaciado gástrico,

Tabla 1. DISTRIBUCIÓN DEL CONTENIDO DE HIERRO EN EL ADULTO

	Contenido de hierro (en mg)	
	Varón (80 kg)	**Mujer (60 kg)**
Hemoglobina	2.500	1.700
Mioglobina/enzimas	500	300
Transferrina	3	3
Depósitos de hierro	600-1.000	0-300

mayor será la cantidad de hierro liberado y posteriormente absorbido. Las secreciones pancreáticas aumentan la absorción por la liberación de aminoácidos presentes en el alimento, que pueden actuar como ligandos del hierro.

2.2. Compartimentos del hierro corporal

El hierro en el organismo va ligado a proteínas, puesto que en estado libre es tóxico y se distribuye en tres compartimentos:

a) Funcional: hierro con función enzimática y metabólica, siendo su mayor representante la hemoglobina.

b) Circulante: asociado al transporte del hierro y representado por la transferrina.

c) De depósito: relacionado con el almacenamiento del hierro y representado por la ferritina y la hemosiderina.

En la **Tabla 1** se recoge la distribución del contenido de hierro en el adulto.

2.2.1. Hierro funcional

Es el grupo cuantitativamente más importante, ya que contiene alrededor de 2,5 g de hierro (más del 70%). En éste hay dos tipos de proteínas, las que tienen el grupo hemo y las proteínas no hemo **(Tabla 2)**.

La síntesis del hemo tiene lugar en la mitocondria y en el citoplasma. El proceso se inicia y finaliza en la mitocondria, localización exclusiva de uno de sus precursores y lugar de inicio de la síntesis regulada por la concentración de hemo.

Tabla 2. HIERRO FUNCIONAL

- **Compuestos que contienen el grupo hemo:**
  hemoglobina, mioglobina, citocromos, citocromo-oxidasa, peroxidasas, catalasas, triptófano-pirrolasa
- **Proteínas hierro-azufre:**
  ferrodoxinas, NADH-deshidrogenasa, succinato-deshidrogenasa, xantino-oxidasa, aldehído-oxidasa, aconitasa, amidofosforribosiltransferasa.
- **Otras enzimas dotadas de hierro no hemínico o hierro-dependiente:**
  porfirín-hidroxilasa, lisil-hidroxilasa, fenilalanín hidroxilasa, tirosín-hidroxilasa, triptófano-hidroxilasa, ribonucleótido-reductasa, monoamino-oxidasa

La mayoría de los pasos intermedios tienen lugar en el citoplasma. La síntesis tiene lugar a partir de las porfirinas, que son tetrapirroles. El hemo es el producto de la unión del hierro ferroso a la protoporfirina IX **(Figura 2)**.

Las proteínas con grupo hemo contienen un núcleo de protoporfirina con hierro y son responsables del metabolismo oxidativo:

a) Hemoglobina. Es un tetrámero formado por cuatro cadenas de globina, cada una asociada a un grupo hemo, que contiene un átomo de hierro, con un peso molecular de 66.000, cuya función es transportar el O_2 desde los pulmones hasta los tejidos. Contiene más del 60% del hierro corporal (2 g) y supone el 95% de las proteínas de los glóbulos rojos, unos 750 g de hemoglobina, que son

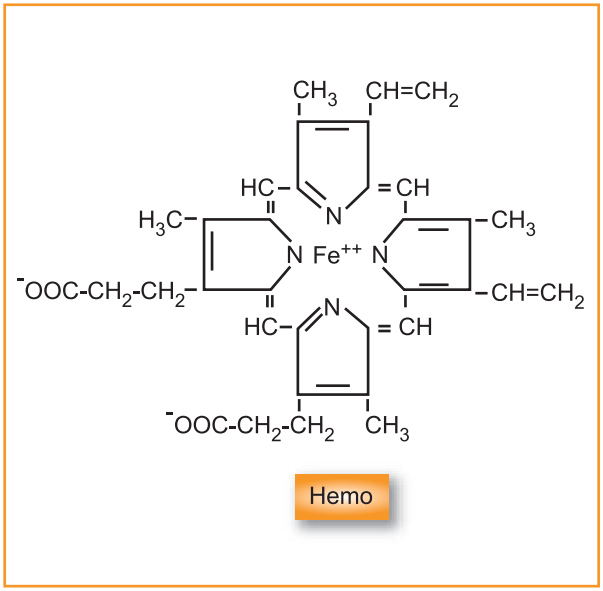


Figura 2. *Estructura del hemo.*

reemplazados cada 120 días. Su *turnover* requiere la síntesis diaria de 6-8 g, precisando para tal fin el 14% de los aminoácidos presentes en la dieta.

b) Mioglobina. Es una cadena del globina unida al grupo hemo con un átomo de hierro. Como pigmento rojo del músculo que almacena el O_2 para proveer a los músculos durante la contracción, supone 5 mg/g de tejido muscular, con un peso molecular de 17.000. Contiene el 10% del hierro corporal (300 mg).

c) Citocromos. Son las enzimas de transporte de electrones localizadas en las mitocondrias y en el retículo endoplásmico. Tienen una vida media de unas 132 horas. Los citocromos *a*, *b* y *c* intervienen en la producción de ATP. El *c* es el más estudiado y su concentración es de 5-100 μg/g de tejido. El citocromo P-450 se encuentra en el hígado y está involucrado en la degradación oxidativa de medicamentos y productos endógenos. Las proteínas sin grupo hemo juegan un gran papel en el metabolismo oxidativo, metabolismo de aminoácidos y síntesis del DNA.

2.2.2. *Hierro de transporte*

La transferrina es la proteína de transporte del hierro, presente en el plasma y en el líquido extravascular, que alcanza una concentración global de 3-4 mg, lo que supone el 0,1-0,2% del hierro corporal total. La apotransferrina (transferrina libre de hierro) es una β1 globulina que puede ligar hasta 2 átomos de hierro.

En suero es posible demostrar la presencia tanto de apotransferrina y transferrina monoférrica, como de transferrina di-férrica. Capta hierro desde el intestino, sistema retículo endotelial o compartimento de reserva y lo lleva hasta el compartimento funcional (eritrocitos y el resto de las células) o el de reserva.

La introducción del hierro al interior de la célula se hace gracias a la unión de la transferrina a un receptor específico situado en la superficie de la membrana celular, como se ha indicado anteriormente (*ver apartado 2.1*).

2.2.3. *Hierro de reserva*

Supone aproximadamente un 20-25% del hierro corporal y su magnitud puede variar ampliamente sin daño aparente del compartimento funcional, estando constituido por la ferritina y hemosiderina, moléculas localizadas principalmente en hígado, sistema retículo-endotelial y médula ósea. El hierro se encuentra en forma de complejos férricos sal-proteína.

a) Ferritina. Tiene un núcleo con hasta 4.500 átomos de hierro y una cubierta proteica que lo rodea, formada por 24 subunidades polipeptídicas. Dado que su función es el depósito intracelular de hierro en forma no tóxica, el principal estímulo para su síntesis es la presencia de hierro en exceso en la célula. Una pequeña cantidad de ferritina circula en plasma, y posee un elevado interés clínico por su estrecha correlación con la magnitud de los depósitos de hierro corporal.

b) Hemosiderina. Es el *pool* de hierro estable, no movilizable y la forma de depósito cualitativamente más importante en individuos con exceso de hierro.

Un 20% del hierro almacenado en el sistema retículo-endotelial está disponible para su utilización en 2-3 horas, siendo un 80% del mismo rápidamente reincorporado a la hemoglobina. Su liberación aumenta en caso de eritropoyesis incrementada y disminuye en presencia de procesos inflamatorios, infecciosos o tumorales, por un mecanismo no bien conocido. Los macrófagos son capaces tanto de sintetizar como de captar hemosiderina.

2.3. Balance del hierro

El contenido corporal de hierro tiende a permanecer dentro de límites relativamente fijos mediante un perfecto control de las entradas y salidas. Dado que las pérdidas de hierro son escasas, la verdadera regulación del balance de hierro en el organismo se lleva a cabo con la absorción del mismo a nivel intestinal.

2.3.1. Biodisponibilidad del hierro en el organismo

En un sentido amplio, la biodisponibilidad de un nutriente es el proceso de su absorción y utilización. Por tanto, incluye no sólo la absorción sino también su retención y excreción. Las diferencias en la biodisponibilidad se ponen de manifiesto por la constatación de que ingestas similares pueden conducir a diferentes tasas de crecimiento en animales jóvenes, razón por la cual para su cuantificación se deben medir la eficacia de la absorción, la tasa de crecimiento, marcadores bioquímicos, desarrollo cognitivo, función inmune y otros biomarcadores. Por otro lado, el propio estado nutricional influencia la biodisponibilidad de distintos nutrientes tanto en niños como en adultos: el nivel de ferritina, por ejemplo, como índice de las reservas de hierro, está en correlación inversa con su grado de absorción.

La incorporación a los eritrocitos de un isótopo del hierro se emplea para calcular su porcentaje de retención, bajo la asunción validada tanto en adultos normales como en los deficientes en hierro de que el 80-100% del isótopo retenido se incorpora rápidamente a los eritrocitos circulantes. Recientemente se ha puesto de manifiesto que en lactantes la incorporación del isótopo estable ^{58}Fe es, a diferencia de otras edades, bastante menor del 80% del retenido, por lo que la extrapolación de datos del adulto provoca una infraestimación de varias veces el porcentaje de retención. En lactantes nacidos a término, la incorporación de ^{58}Fe a los eritrocitos a los 14 días de la ingestión es del 5,2% a la edad de 1-2 meses y del 12,5% en los de 6-7 meses, por lo que la utilización del isótopo retenido resulta ser de un 19,8% y del 38,3% a los 1-2 meses y 6-7 meses, respectivamente. Estos porcentajes son más bajos en lactantes pretérmino.

Entre el nacimiento y los 6 meses de vida cambian tanto las necesidades como los aportes de hierro. El neonato a término sano nace con unas elevadas reservas que se ven aumentadas por la hemólisis de eritrocitos debida a la poliglobulia, fisiológica hasta el parto y que deja de ser necesaria al respirar el neonato de forma autónoma. En consecuencia, en esta etapa los requerimientos de hierro son escasos, más aún porque la biodisponibilidad del hierro presente en la leche materna es favorable. Sin embargo, el crecimiento es tan rápido que las abundantes reservas de hierro disponibles al nacimiento se agotan habitualmente entre los 4 y los 6 meses de edad. A partir de los 6 meses, es necesaria una fuente suplementaria de hierro para evitar su deficiencia. La concentración de ferritina a partir del 6° mes parece estar influenciada por el peso al nacimiento, por la modalidad de alimentación inicial, por el momento y tipo de introducción de la alimentación complementaria y por la tasa de crecimiento en los primeros 6 meses de vida. El nadir de hierro se alcanza más precozmente en los prematuros y en los de bajo peso que en los neonatos a término de peso adecuado.

El inicio de la suplementación con hierro altera profundamente el balance de otro elemento traza, el zinc, que está presente en la leche materna inicialmente en cantidades (2-3 mg/l) superiores a las de hierro (0,5 mg/l), y también con buena biodisponibilidad y requerimientos relativamente elevados, pero que precisa de la alimentación complementaria para mantener concentraciones normales. El aporte suplementario de hierro parece disminuir la absorción de zinc, poniéndose de manifiesto potenciales interacciones entre minerales en una población con requerimientos relativamente elevados de ambos elementos. Entre los 6 y los 24 meses los alimentos recomendados en la alimentación complementaria van fortificados con hierro pero en mucha menor medida con zinc. La concentración de zinc es mayor y su absorción se ve favorecida por las dietas que incluyen carnes. La absorción del sulfato ferroso exógeno es dependiente de la concentración de ferritina, mientras que al parecer la absorción del hierro presente en la leche materna no lo es.

A partir del nacimiento, la entrada del hierro al organismo se hace por vía digestiva. La absorción del hierro tiene lugar a nivel de duodeno y yeyuno, y la

cantidad absorbida va a depender del nivel de depósitos de hierro, de la actividad eritropoyética, de la cantidad y forma de presentación del hierro en los alimentos, y de la interacción de otros componentes de la dieta que actúan como facilitadores o inhibidores de la absorción. Una dieta mixta europea suele aportar 6 mg de hierro por cada 1.000 calorías. Sólo una pequeña fracción, el 10%, es absorbida.

La forma de presentación del hierro en los alimentos es importante dado que el hierro hemo es más biodisponible, es decir, más fácilmente absorbible que el inorgánico no hemo y no se ve influenciada por los distintos componentes de la dieta. En cambio, el porcentaje de absorción del hierro no hemo se modifica por los ácidos clorhídrico y ascórbico, azúcares y aminoácidos, como facilitadores de su absorción; mientras que los fosfatos, fitatos, oxalatos y tanatos actuan inhibiéndola.

2.3.2. Excreción

Las pérdidas de hierro son pequeñas y fijas en condiciones normales. Se pierde hierro por las heces debido a la descamación del epitelio intestinal, por la piel y por la orina. En lactantes y menores de 2 años las pérdidas son de 0,04 mg/kg/día, y en niños entre 2 y 8 años se estiman unas pérdidas discretamente más bajas, 0,03 mg/kg/día.

2.3.3. Requerimientos

Los requerimientos de hierro son la cantidad que ha de reponerse para soportar las pérdidas y las demandas propias del organismo en crecimiento. Varían en función de la edad y el sexo **(Tabla 3)**, entre los 6 mg/día durante los 6 primeros meses de vida hasta 30 mg/día en el embarazo. También el parto y la lactancia son periodos de mayores requerimientos. Los aportes nutricionales diarios recomendados (IDR) están basados en el conocimiento científico actual, a juicio del *Food and Nutrition Board* y, puesto que pretenden cubrir los requerimientos de casi todos los individuos sanos, exceden las necesidades diarias de la mayoría de las personas. Aunque al estar calculados en base a dietas que incluyen a diario carne y ascorbato, las necesidades serán mayores en ausencia de estos promotores de la absorción.

Tabla 3. REQUERIMIENTOS DE HIERRO APORTADOS EN LA DIETA SEGÚN EDAD Y SEXO

Edad (años)	DRI (mg/día)
Niños (Ambos sexos)	
< 6 meses	6
0,5-1 año	10
1-10 años	10
Mujeres	
11-18 años	15
19-50 años	15
Embarazadas	30
Lactando	15
> 51	10
Varones	
11-18 años	12
19+ años	10

DRI: ingesta dietética de referencia.
Fuente: Recommendations to prevent and treat alcohol iron deficiency in the United States. Morbid Mortal Nuk MMWR *1998; 47 (NoRR3). Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes. National Academy Press. Washington, DC, 2001.*

2.4. Modificaciones de la distribución del hierro durante el desarrollo

La distribución del hierro en sus diferentes compartimentos se modifica desde el nacimiento hasta la adolescencia. Los compartimentos más afectados son el hierro hemoglobínico y el de depósito, que, en conjunto, suponen el 85% del hierro corporal.

2.4.1. Feto y recién nacido

Durante el desarrollo fetal se produce un eficiente transporte activo de hierro desde la madre al feto a través de la placenta, tan eficaz que, en ocasiones, puede determinar una cierta carencia en la madre.

Los depósitos de hierro parecen ir unidos a los requerimientos de síntesis de hemoglobina del feto, como lo demuestra la relación inversa entre la ferritina y la hemoglobina en sangre de cordón.

La concentración de hierro es siempre mayor en el suero (salvo en casos de anemia severa) que en la leche materna, y en ésta va unida a péptidos de bajo peso molecular, gotas de grasas y a la lactoferrina (con un índice de saturación entre el 2 y el 12%), en orden descendente de importancia. Aunque no son bien conocidos los mecanismos reguladores del paso de hierro desde el suero hasta la leche materna, no dependen de la ingesta ni de las reservas maternas (tipo de dieta, desnutrición). La concentración de hierro en la leche materna publicada por varios estudios es siempre baja, aunque varía mucho, con un valor medio de 0,47 mg/l. Dicha concentración desciende ligeramente conforme avanza la lactancia, y es independiente de las concentraciones séricas de ferritina o transferrina. No se ha descrito ningún factor que la modifique de modo apreciable. No varía con la duración de la gestación y, por tanto, las altas demandas de hierro de los prematuros no están relacionadas con la escasez de hierro en la leche de sus madres. El embarazo adolescente, el hábito tabáquico, la dieta vegetarina y el uso prolongado de anticonceptivos antes y durante la lactancia no modifican la concentración de hierro presente en la leche materna. El uso de anticonceptivos hormonales tiene un elevado impacto en el metabolismo del hierro, pero sólo por reducción del volumen de la pérdida menstrual. Tanto estudios *in vivo* como *in vitro* han demostrado las propiedades bacteriostáticas de la leche materna, en las que el hierro juega un papel clave. La concentración de hierro determina el grado y tipo de la colonización bacteriana fecal. El hierro añadido a una fórmula láctea modifica aún más el perfil de la microbiota fecal propio de la lactancia materna.

Como se ha indicado, la concentración de hemoglobina es más alta en el nacimiento que en ningún otro momento de la vida, como uno de los mecanismos de adaptación del feto al ambiente hipóxico intrauterino. La dotación de hierro corporal en el recién nacido es de 75 mg/kg. En el pretérmino y en recién nacidos de bajo peso es cuantitativamente menor, aunque la proporción en relación con el peso es idéntica.

2.4.2. Lactante (1-24 meses)

En el primer año de vida se triplica el peso y debería doblarse el contenido de hierro corporal. Después del nacimiento hay grandes modificaciones que pueden ser divididas en tres etapas:

1. Entre las 6 y las 8 semanas de vida se produce un descenso marcado de hemoglobina por disminución de la tasa de eritropoyesis, que resulta innecesaria, al aumentar la saturación arterial de oxígeno tras el parto. La magnitud del descenso está determinada por el acortamiento (patología intercurrente) de la vida media de los eritrocitos, por la disminución del porcentaje de células eritroides en la médula ósea y la disminución de la hematopoyesis extramedular (que desciende un 50% en la primera semana de vida). Por su parte, los depósitos aumentan, ya que el hierro hemoglobínico procedente de los eritrocitos hemolizados es almacenado, condicionando una escasa absorción del hierro alimenticio.

2. Entre los 2 y los 4 meses la hemoglobina aumenta al restaurarse la eritropoyesis, debiendo permanecer así hasta el primer año de vida. Para este incremento se utiliza el hierro en depósito, que comienza a disminuir.

3. A partir de los 4 meses los requerimientos de hierro aumentan 0,78 mg/día, debido al rápido crecimiento. Las reservas disminuyen a niveles patológicos si las necesidades no son cubiertas con hierro en la dieta. En el recién nacido de bajo peso y en el pretérmino, al disponer de una cantidad de hierro menor al nacer y al ser mayores los requerimientos (mayor velocidad de crecimiento), la predisposición a la carencia de hierro es mayor y los cambios en la hemoglobina y reservas más acentuados.

2.4.3. Preescolar, escolar y preadolescente

El estado del hierro mejora por el incremento de las oportunidades de obtener hierro desde una dieta variada. La eritropoyesis guarda relación con el crecimiento, con un incremento gradual de la concentración de hemoglobina; sin embargo, los depósitos de hierro estimados por la concentración de ferritina usualmente permanecen bajos.

2.4.4. Adolescente

El análisis de la distribución de la concentración de hemoglobina y del estado del hierro revela el

importante efecto del estirón puberal tanto sobre el metabolismo como sobre los requerimientos de hierro. La adolescencia es un periodo de nutrición marginal del hierro, con elevada prevalencia del déficit. En varones, puesto que el incremento puberal de la testosterona provoca un incremento de la hemoglobina y del recuento eritrocitario. En las mujeres, en cambio, para reemplazar el hierro durante la pérdida menstrual.

Los requerimientos de hierro en varones adolescentes, mediante análisis factorial computerizado, se calculan a partir de los requerimientos necesarios para la expansión del volumen sanguíneo total (de media, 0,18 mg/día en varones, 0,14 mg/día en chicas) y del incremento en el compartimento de hierro corporal esencial debido al incremento de la masa magra (0,55 mg/día en varones, 0,33 mg/día en chicas, de requerimientos adicionales medios). En el aumento de los requerimientos de hierro por el incremento de masa eritrocitaria se incluyen el incremento de hemoglobina media desde los años escolares hasta el estirón estatural de la adolescencia. En adolescentes de Estados Unidos se ha estimado que la hemoglobina aumenta en estos años desde 13 g/100 ml hasta 13,3 en chicas, y hasta 14,1 en varones. Este dato supone que el incremento de los requerimientos medios de hierro puede sobrepasar los 1,8 mg/día, o más del doble que los requerimientos de los varones preadolescentes.

En varones adolescentes europeos la estimación de requerimientos se sitúa en 1,45-2,03 mg/día; y 1,22-1,46 mg/día; y 1,39-2,54 mg/día para chicas antes y después de la menstruación, respectivamente. En ambos casos, se pone de manifiesto que las necesidades de hierro son el doble durante la adolescencia.

En chicas europeas se ha estimado que la ingesta media de hierro es de 10 mg hasta los 15 años, y posteriormente aumenta hasta 13-14 mg/día. En adolescentes varones, en cambio, hay un incremento gradual desde los 10 mg/día a los 11 años hasta los 15 mg a los 16 años, con un importante incremento posterior hasta los 20 mg/día a la edad de 17 y años posteriores. Estas ingestas serían suficientes para prevenir la depleción de los depósitos en mujeres adolescentes, pero insuficientes para aumentarlos de modo sustancial. Puesto que la eficiencia de la absorción decae conforme aumentan las reservas, es necesario un gran aumento de la ingesta para aumentar de modo significativo la concentración plasmática media de ferritina en chicas adolescentes.

Requerimientos de hierro en mujeres adolescentes. En Estados Unidos, según una encuesta nacional reciente, entre el 8 y el 10% de las chicas entre los 12 y 19 años padecen ferropenia, porcentaje mayor que el registrado hace 20 años. En el mismo periodo la prevalencia de ferropenia en varones ha caído desde el 11 al 1% en el mismo grupo de edad. En adolescentes, la cantidad de hierro que se moviliza entre compartimentos probablemente varía ligeramente en función del tamaño corporal y el inicio de la menstruación en mujeres. A las necesidades por crecimiento corporal hay que añadir en las chicas la cantidad de hierro perdido en la menstruación, que no difiere de las pérdidas en mujeres en edad reproductiva. En cada periodo hay una pérdida media de 84 ml de sangre, lo que, para una cifra de hemoglobina de 13,3 g/100 ml, supone 0,56 mg adicionales de hierro por día (0,17 y 1,08 mg, respectivamente, para los percentiles 10 y 90). Por ello, los requerimientos diarios de hierro se situarían hasta en 2,1 mg/día en chicas con unas pérdidas menstruales en el percentil 75.

Según distintos estudios entre un 16 y un 55% de las muchachas adolescentes padecen anemia al quedarse embarazadas, y el embarazo es un periodo demasiado breve para lograr su corrección, sobre todo en aquellas que no acuden a los controles de embarazo hasta el segundo o tercer trimestre y, más aún, teniendo en cuenta que la carencia de hierro al inicio del embarazo parece afectar al feto en mayor medida que en el tercer trimestre. En consecuencia, se recomienda aumentar de modo importante la ingesta de hierro en adolescentes, y mantener la suplementación durante todo el embarazo, caso de producirse.

A modo de resumen, el embarazo en adolescentes supone para el metabolismo del hierro:

1. Que las reservas de hierro son probablemente insuficientes en un porcentaje significativo de adolescentes, aun en países desarrollados.

2. Que la superposición del aumento de las necesidades por el crecimiento, inicio del sangrado menstrual y embarazo sugiere que las oportunidades para replecionar suficientemente los depósitos antes del embarazo son escasas.

3. Que las consecuencias funcionales de la deficiencia férrica ocurren en la madre y en su hijo lactante.

4. Que la anemia ferropénica al inicio del embarazo parece conllevar consecuencias deletéreas sobre el feto.

2.4.5. Adulto

Después del cese del crecimiento sólo en varones suben gradualmente los depósitos de hierro. Similares subidas tienen lugar en mujeres pero después de la menopausia. La diferencia entre sexos es debida a la menor cantidad de hemoglobina y al pequeño tamaño de los depósitos en las mujeres: 0,3 mg o el 15% del total del hierro en mujeres, comparado con 1 g o el 30% en hombres.

La pérdida de hierro procedente del *turnover* eritrocitario es aproximadamente 0,38 mg Fe/día en adultos, las pérdidas por la bilis entre 0,22 y 0,28 mg Fe/día, la descamación de células gastrointestinales supone unos 0,24 mg Fe/día, y las pérdidas urinarias, entre 0,5 y 1,0 mg Fe/día.

Durante el embarazo, para la expansión de la masa eritrocitaria en el 2° y 3er trimestre y para el crecimiento del feto y de la placenta, se han estimado las necesidades de hierro, también mediante análisis factorial, en 1.290 mg, contabilizando las pérdidas hemáticas en el parto. La amenorrea durante los 9 meses de embarazo ahorra 290 mg de hierro, y el periodo de lactancia por encima de los 400 mg.

Las necesidades medias de hierro durante este periodo pueden calcularse en 4 mg de hierro por día. El incremento importantísimo de la eficiencia en la absorción de hierro en los trimestres 2° y 3° del embarazo, en respuesta al declive de las reservas podría compensar en parte los mayores requerimientos. Se debate si el hierro en la dieta sería suficiente para cubrir las necesidades o es necesaria la suplementación.

3. Deficiencia de hierro

La deficiencia de hierro puede definirse como aquella situación en la que se produce un balance negativo lo suficientemente intenso y duradero como para comprometer la síntesis de hemoglobina y del resto de los compuestos férricos. El espectro de estadios se inicia con el vaciamiento del hierro de los depósitos, situación conocida como ferropenia latente, que, por sí misma, no implica ningún estado patológico.

Si el balance de hierro continúa siendo negativo comienza a afectarse el compartimento de hierro funcional o tisular, situación conocida como ferropenia manifiesta y eritropoyesis ferropénica, por fallo en el aporte de hierro a la célula con disminución de los compuestos de hierro y descenso ligero de la hemoglobina sin llegar a alcanzar niveles patológicos. En un último estadio se vería afectada la síntesis de hemoglobina, determinando la anemia ferropénica.

La anemia, globalmente considerada, es con frecuencia de origen multifactorial, entre otros factores:

1. Por déficit de hematínicos (hierro, folato, vitaminas A, B_{12} y C, y cobre), o desnutrición generalizada.

2. Alteración de la producción de eritrocitos debida a inflamación aguda o crónica (con aumento de los depósitos de hierro).

3. Aumento de la destrucción de hematíes, bien por infecciones específicas (p. ej., malaria) o debido a la carencia de nutrientes específicos (vitamina A).

3.1. Causas

La ferropenia se desarrolla cuando se rompe el equilibrio entre utilización y eliminación, por una parte, y la ingesta, por otra. Los mecanismos del balance negativo serán, por tanto, el ingreso insuficiente, el consumo elevado por aumento de los requerimientos y las pérdidas excesivas **(Tabla 4)**.

3.1.1. Ingreso insuficiente

Es el motivo más frecuente de ferropenia en el lactante, porque a partir de los 4 meses la ingesta de hierro debe subvenir el 30% de las necesidades. En el lactante, la falta de aporte de hierro en los alimentos y su escasa biodisponibilidad, se puede deber a:

Tabla 4. CAUSAS DEL DÉFICIT DE HIERRO

Absorción inadecuada
- Escasa biodisponibilidad
- Tratamiento antiácido o pH gástrico elevado
- Exceso de salvado, taninos, fitatos o almidones en la dieta
- Absorción competitiva con otros metales (p. ej., cobre o plomo)
- Pérdida o disfunción de enterocitos absortivos
- Resección intestinal
- Celiaquía
- Enfermedad intestinal inflamatoria
- Defecto intrínseco de los enterocitos

Incremento de las pérdidas
- Sangrado genitourinario
- Menorragia
- Cáncer
- Infección crónica
- Sangrado pulmonar
- Hemosiderosis pulmonar
- Infecciones

Sangrado gastrointestinal
- Epistaxis
- Varices esofágicas
- Gastritis
- Úlcera
- Tumores
- Divertículos de Meckel
- Parasitosis
- Enteropatía por leche de vaca del lactante
- Enfermedad intestinal inflamatoria
- Diverticulosis
- Hemorroides

Otro tipo de sangrado
- Traumatismos
- Flebotomía excesiva
- Malformaciones vasculares mayores

1. La introducción de la leche entera de vaca en niños menores de 1 año.

2. Mantener la lactancia materna exclusiva más allá de los 6 meses, en ambos casos en ausencia de una correcta alimentación complementaria.

La leche entera de vaca contiene 0,6 mg/l de hierro, del que sólo se absorbe un 10%. En cambio, la escasa concentración de hierro en la leche materna (0,5 mg/l) se compensa con su elevada biodisponibilidad, llegándose a absorber hasta un 50%. Estos datos explican que entre los 9 y los 12 meses de vida desarrollen ferropenia el 20-40% de los niños que toman leche entera de vaca antes del primer año, y sólo un 15-25% de los alimentados exclusivamente con el pecho, por encima de los 6 meses de edad.

A partir de los 12 meses el excesivo consumo de lácteos (más de 500 ml/día), junto a dietas ricas en cereales, legumbres y verduras (hierro de baja biodisponibilidad), sin incremento en la ingesta de carne y pescado que aportan hierro hemo, más fácilmente absorbible y de alta biodisponibilidad, conducen igualmente a aumentar el riesgo de ferropenia.

La ingesta diaria de hierro depende de su forma química (tipo de alimentos consumidos), aunque se han descrito múltiples inhibidores de su absorción y algunos estimuladores (el ácido ascórbico y la carne para el hierro no hemo) que modifican su biodisponibilidad. Se absorbe entre el 5 y el 35% del hierro hemo presente en una comida, porcentaje que sólo llega al 2-20% para el hierro no hemo. La absorción del hierro hemo sólo se ve modificada por dos factores: la ingesta de carne la aumenta, mientras que el calcio la inhibe.

Por el contrario, la absorción del hierro no hemo se reduce por múltiples factores: salvado, hemicelulosa, celulosa, pectina, ácido fítico (presente en los alimentos con trigo, maíz o soja) y los polifenoles. La absorción más eficaz de hierro hemo hace que, aunque sólo represente un $\simeq$ 10% del hierro presente en la dieta, provea la tercera parte del hierro dietético absorbido. La absorción aumenta en sujetos deficitarios y este regulador interno parece ser más importante que cualquiera de los componentes individuales de la dieta. Las pérdidas basales obligadas son $\simeq$ 1 mg Fe/día. La dieta occidental prototípica contiene como media 6 mg de hierro hemo y no hemo por 4.120 kJ de ingesta energética. El hierro presente en preparados polivitamínicos y minerales (sobre

todo si contienen calcio) se absorbe menos que administrado aisladamente, y menos aún si se administra con las comidas. En adultos, el café y el té tras la comida también interfieren en la absorción de hierro.

3.1.2. Aumento de las necesidades

Tiene lugar en los momentos de máximo crecimiento por el aumento del tejido hemático y de los tejidos sólidos. Los grupos de mayor riesgo son la infancia (de 6 meses a 3 años) y la adolescencia. En el pretérmino y en el niño de bajo peso, al tener mayor crecimiento y menores reservas de hierro, el riesgo de depleción de los depósitos es aún mayor y comienza a los 2-3 meses.

3.1.3. Pérdida excesiva

Como es sabido, las pérdidas obligadas de hierro son de 1 mg/día y comparativamente mayores en el niño. Las pérdidas patológicas de hierro **(Tabla 4)** se deben generalmente a hemorragias de mayor o menor cuantía, sobre todo a través del tubo digestivo [hernia de hiato, ulcus, divertículo de Meckel, colitis ulcerosa, ingesta de medicamentos como la aspirina, antiinflamatorios no esteroideos (AINES) o corticoides].

Dentro del grupo de pérdida gastrointestinal hay que mencionar dos causas por su frecuencia, la anquilostomiasis, parasitosis rara en nuestro medio pero sí considerada a escala mundial como la causa más frecuente de pérdida sanguínea por el aparato digestivo, y la hemorragia oculta en heces por ingesta de leche entera de vaca en niños menores de 1 año. Otras pérdidas hemáticas de origen distinto al gastrointestinal son excepcionales, así como las producidas en el periodo neonatal por hemorragias feto-fetales y feto-maternas, lesiones placentarias, etc.

En la adolescencia, las pérdidas menstruales excesivas en las niñas constituyen un factor de riesgo de ferropenia añadido al aumento de los requerimientos ocasionados por el crecimiento.

Las anomalías congénitas o adquiridas del epitelio intestinal son otra causa de ferropenia. Los defectos congénitos son escasamente conocidos a nivel intestinal.

La hipotransferrinemia o atransferrinemia es un cuadro raro que cursa con muy escasa o ausente transferrina, anemia ferropénica intensa y sobrecarga de hierro tisular. En otro tipo de pacientes, se detecta una concentración normal de transferrina, pero presentan anemia que no responde al aporte oral de hierro y sólo parcialmente al hierro parenteral, sin que se haya detectado en ellos mutación alguna del transportador de hierro DMT-1.

4. Manifestaciones clínicas relacionadas con la carencia férrica

Las manifestaciones clínicas del déficit de hierro dependen de la magnitud de la ferropenia, y son en buena medida secundarias a la anemia **(Tabla 5)**, pero también (y, sobre todo, en la edad pediátrica) por efecto directo de la falta de hierro sobre el sistema nervioso central en desarrollo **(Tabla 6)**.

A medida que el balance negativo progresa, el hierro del compartimento de depósitos se agota y comienza a deteriorarse el hierro tisular o funcional, no sólo responsable de la formación de hemoglobina, sino también de múltiples compuestos relacionados con el metabolismo oxidativo celular, síntesis de DNA, metabolismo de neurotransmisores y síntesis lipídica.

Debe considerarse, por tanto, que la ferropenia en todo su espectro, conlleva manifestaciones clínicas hematológicas y sistémicas, a nivel de otros órganos y aparatos que hay que tener en cuenta.

Las manifestaciones clínicas manifiestas del déficit crónico de hierro son la glositis, estomatitis angular, coiloniquia (uñas en forma de cuchara, delgadas y frágiles), escleróticas azuladas, sangrado esofágico (síndrome de Plummer-Vinson) y anemia.

Con frecuencia se observan trastornos de la conducta como la "pica", que carecen de explicación biológica.

4.1. Clínica hematológica

A nivel hematológico, la manifestación típica de la carencia de hierro es la anemia hipocroma microcítica, consecuencia de un déficit avanzado

Tabla 5. ALTERACIONES NEUROQUÍMICAS DEBIDAS AL DÉFICIT DE HIERRO Y NEURODESARROLLO

Neuroquímico	Repercusión metabólica	Repercusión clínica	Reversibilidad
GABA	± GABA Descenso de GAD Descenso de GABA-T	Alteración de los neurotransmisores implicados en la regulación de las hormonas hipotalámi-cohipofisarias que participan en el control de la conducta	Irreversible en caso de déficit de hierro durante la gestación
Dopamina	Descenso de receptores D2	Menor capacidad motriz y reducción de los procesos de aprendizaje	Irreversible
Fenilalanina	Aumento de fenilalanina debido al descenso de actividad de la fenilalanina hidroxilasa	Menor capacidad de aprendizaje debido a un efecto *PKU-like* (similar a fenilcetonuria)	Reversible
Serotonina	Descenso de 5-HTP por reducción de triptófano o de la actividad de la tirosina hidroxilasa o aumento de 5-HTP debido a menor degradación por la aldehído oxidasa	Alteración del neurodesarrollo, o excesiva somnolencia, descenso del nivel de atención y del aprendizaje por efecto serotoninérgico	Irreversible o reversible

GABA: ácido γ-aminobutírico; 5-HTP: 5-hidroxitriptófano; GAD: glutamato decarboxilasa; PKU: fenilcetonuria.
Fuente: Yager JY, Hartfield DS. Neurologic manifestations of iron deficiency in childhood. Pediatr Neurol *2002; 27: 85-92*

Tabla 6. SINTOMATOLOGÍA CLÍNICA RELACIONADA CON EL DÉFICIT DE HIERRO

Síntomas precoces	Signos clínicos	Clínica no hematológica
Cansancio	Palidez	Función celular y crecimiento alterados
Cefalea	Fatiga	Alteración del desarrollo motor, de la conducta y de la función cognitiva
Irritabilidad	Dificultad respiratoria	Pobre crecimiento y desarrollo fetal, y parto prematuro
Depresión	Reducción de la capacidad de trabajo, menor resistencia a infecciones	

de hierro que llega a interferir en la síntesis de hemoglobina. El daño de las peroxidasas de la membrana del hematíe parece estar relacionado con la descrita rigidez anormal de los hematíes y con el acortamiento de su supervivencia, debido a su atrapamiento y destrucción en el bazo. La anemia ferropénica suele ser de instauración lenta, por lo que el organismo va adaptándose al descenso de hemoglobina, tolerando cifras muy bajas con escasas manifestaciones clínicas.

4.2. Clínica digestiva

La anorexia es el síntoma más frecuente y precoz, y a su vez condiciona el estancamiento ponderal. La pica (ingesta de algún tipo de materia sin propiedades nutritivas) y la pagofagia han sido asociadas con la anemia ferropénica, puesto que desaparece al tratarla.

4.3. Repercusión sobre el crecimiento

Aunque la anemia ferropénica en niños está asociada a un estancamiento ponderal, la relación causa-efecto es aún incierta debido a su asociación con otros déficit nutricionales, estableciéndose un círculo vicioso patogénico. El aporte de hierro a niños anémicos se traduce habitualmente en un rápido aumento de peso, por mejoría de la irritabilidad y de la anorexia.

También puede incrementarse la velocidad de crecimiento, probablemente por reducción de la morbilidad que la anemia conlleva (fiebre, diarrea, infecciones respiratorias, etc.).

4.4. Repercusión sobre el SNC

Los pacientes con déficit de hierro padecen una alteración del comportamiento manifestada como apatía, irritabilidad o incapacidad para la concentración **(Tabla 6)**. Sin embargo, no ha sido posible demostrar consistentemente la relación causal entre los cambios en el comportamiento y la precariedad de las reservas de hierro.

La base fisiopatológica radica en la importancia que sobre la función neurológica tienen diversos compuestos ferrodependientes implicados en la fosforilación oxidativa, síntesis de DNA, metabolismo de neurotransmisores y en la mielinización. El déficit de hierro puede tener un efecto neuroquímico directo, bien por descenso del hierro presente en las células nerviosas con reducción (demostrada) de la concentración de neurotransmisores, o por descenso del oxígeno cedido a las células del SNC (menor capacidad de transporte en caso de anemia) al igual que al resto de la economía celular. La deficiencia de hierro también puede afectar al comportamiento por un mecanismo indirecto. Muchos estudios han demostrado que los niños con anemia ferropénica presentan problemas de aprendizaje, muestran menor atención y tienen menor capacidad de respuesta.

De todas estas observaciones, surge la necesidad y el considerable interés de demostrar consistentemente si efectivamente los estados precoces de déficit de hierro afectan al desarrollo neurológico posterior y en particular a la función cognitiva. El desarrollo del niño es un proceso esencialmente longitudinal, en el que los factores que lo modifican precozmente pueden manifestar sus efectos (positivos o negativos) de modo inmediato o a largo plazo. En este sentido, se han hecho estudios en animales y en humanos, estudios epidemiológicos y de intervención a corto y largo plazo. Los estudios en ratas sometidas en etapas tempranas de su vida a dietas pobres en hierro mostraron que aquellas que tenían un menor contenido de hierro hemocerebral eran menos activas, respondían peor a los estímulos ambientales y tenían menor capacidad de aprendizaje que aquellas no deprivadas.

Los estudios acerca del desarrollo psicomotor en pacientes con anemia ferropénica presentan distintos problemas:

a) Son muy pocos los ensayos clínicos aleatorizados que hayan sido repetidos en un periodo determinado de tiempo y en diferentes estadios de falta de hierro y continúen el seguimiento del paciente una vez suspendido el tratamiento.

b) Con frecuencia carecen de suficiente potencia estadística (escaso número de pacientes estudiados).

c) Definen la deficiencia de hierro basándose en un solo parámetro.

d) Usan dispares baterías de tests psicológicos (que deben ser apropiados para la edad del paciente) y analizan varias puntuaciones para cada test, con el riesgo de obtener diferencias significativas espúreas o no detectar efectos cognitivos específicos de la carencia de hierro.

e) Son muy escasos los realizados en niños de alto riesgo (p. ej., bajo peso al nacer).

f) No valoran adecuadamente la concurrencia de otros déficit nutritivos que pueden suponer factores de confusión.

La mayor parte de los estudios epidemiológicos se basan en estudios transversales que comparan distintas poblaciones infantiles antes y después de una intervención. La mayoría, aunque no todos,

concluyen que la deficiencia de hierro en la infancia está asociada a un daño en la función mental y motora de los niños, recibiendo menos atención el grado de déficit de hierro necesario para provocar estos efectos. Al valorarse el efecto del suplemento de hierro durante un corto periodo de tiempo (≥ 2 semanas), la mayoría de los estudios realizados demostraron una mejoría en las escalas de desarrollo en aquellos niños previamente diagnosticados de anemia ferropénica. Con aporte de un suplemento de hierro durante un tiempo más prolongado, suficiente como para corregir la cifra de hemoglobina, mostraron un incremento significativo en la escala de desarrollo de Bayley en comparación con el grupo de ferropenia sin anemia y el grupo con hierro suficiente. El suplemento de hierro en el grupo con anemia ferropénica hizo revertir los efectos de la misma en la escala de desarrollo. Recientemente, algunos trabajos relacionan el déficit de atención e hiperactividad (TDAH) con la carencia férrica.

En la actualidad, no hay dudas acerca de que la anemia ferropénica está asociada a un daño en la función psíquica. Sin embargo, para valorar si el hierro por sí solo es un factor causal, se necesitan estudios a gran escala. No se puede concretar tampoco cuál es el periodo crítico en la edad de desarrollo neurológico en la infancia que nos haga más vulnerables a la deficiencia de hierro y que conduzca a efectos irreversibles.

4.4.1. Deficiencia de hierro en distintas edades y desarrollo cognitivo

Lactancia. En los dos primeros años de vida el niño es muy vulnerable a los factores ambientales, y este periodo coincide con la máxima prevalencia de anemia. Muchos estudios concuerdan en que la anemia ferropénica se asocia a un retraso del desarrollo, que puede ser revertido con el tratamiento a largo plazo con hierro oral; no parece ser igual de eficaz la ferroterapia de corta duración, y no están bien definidas las consecuencias de la ferropenia sin anemia. En algunos modelos animales el déficit de hierro reduce la actividad dopaminérgica, provocando cambios conductuales. En los seres humanos, el trastorno en la producción de componentes férricos fundamentales parece alterar principalmentalmente los sistemas dopaminérgico-opioide (con alteraciones aún no bien definidas del metabolismo de la dopamina y de la noradrenalina), así como al hipocampo, alterando las funciones cognitivas como el aprendizaje y la memoria, y el sistema inmune. El niño con déficit de hierro tiene mayores probabilidades de enfermar, proceso que conlleva un menor grado de atención y reactividad ambiental; incluso antes de que caigan los valores de hemoglobina por debajo de la normalidad. La importancia de la carencia férrica se demostraría no sólo confirmando su efecto sobre la conducta (p. ej., menor capacidad de atención y de colaboración), sino también porque dicha repercusión sea prevenible y corregible mediante programas de salud pública realizables.

En la escala de desarrollo de Bayley los lactantes anémicos puntúan más bajo, incluso tras ajustar por posibles factores confusores. La puntuación se recupera después de 3 meses de aporte de hierro, salvo en aquellos que tenían una deficiencia severa de hierro y que en la segunda valoración no estaban anémicos pero sí ferropénicos, quizá debido a que los lactantes anémicos muestran más dificultades para completar los tests, por el propio trastorno conductual o a las circunstancias ambientales alteradas. La mejoría parcial se explicaría porque los efectos de la anemia persistirían en el tiempo a pesar de su corrección. En caso de ferropenia sin anemia, se aprecia una tendencia a menores puntuaciones en la escala de desarrollo de Bayley, pero sin evidencias que asocien la ferropenia y el retraso del desarrollo motor. En edades mayores la relación entre estado férrico y adquisiciones cognitivas es menos evidente.

Edad preescolar. En esta etapa la incidencia de anemia ferropénica es elevada y se asocia a un retraso del desarrollo, aunque es improbable como único factor responsable y quizá sólo sea un factor más (aunque importante) asociado a las condiciones socio-ambientales desfavorables. Los suplementos de hierro se asocian a un mejor desarrollo del lenguaje y motor, pero sólo en el grupo con una hemoglobina inicial inferior a 9 g/dl. En países en vías de desarrollo también se han mostrado eficaces en la mejora del rendimiento intelectual las estrategias de fortificación con hierro de algunos alimentos.

Edad escolar. Los estudios disponibles también apoyan para este grupo de edad la hipótesis de que el déficit de hierro trastorna el aprendizaje

y disminuye la capacidad para resolver problemas, en base a detectarse una mejoría significativa en los tests de aprovechamiento escolar tras el aporte de hierro y subsecuente corrección de la anemia. Mejora la capacidad para la realización de algunos tests específicos, como la atención visual, la adquisición de conceptos, y en menor medida la habilidad para resolver problemas. Habitualmente, no se puede establecer su relación causal con la deficiencia de hierro puesto que en los estudios no se controlaron de modo riguroso las condiciones socioeconómicas.

Adulto joven. En otro grupo de edad, y también en elevado riesgo de anemia, como es el de las embarazadas jóvenes, un ensayo con hierro oral mejoró la memoria a corto plazo y el intervalo de atención sostenida, en relación con el grupo control. Otros ensayos, en mujeres adolescentes con ferropenia sin anemia, muestran junto a la mejoría de las reservas de hierro, una mayor puntuación en tests de aprendizaje verbal y de memoria, así como del rendimiento físico.

Con los conocimientos actuales está justificado el *screening* de los niños en riesgo de ferropenia aún sin anemia. Investigaciones futuras tendrán que aclarar la repercusión del déficit de hierro en distintas etapas del desarrollo, su efecto a largo plazo y estudios coste-beneficio; aun con la interrogante de si dichas investigaciones puedan no ser el mejor destino de unos recursos limitados.

Puesto que la deficiencia férrica es todavía común, sobre todo en familias con un nivel socioeconómico bajo, con resultado de un escaso crecimiento y desarrollo, el aporte oral de hierro, el *screening* para su detección y el uso de fórmulas lácteas fortificadas con hierro deberían garantizarse hasta los 2 años de vida, aun a pesar de que las fórmulas fortificadas se toleran peor y su eficacia a largo plazo está en duda. Incluso se ha sugerido que la suplementación con hierro de diversos alimentos podría provocar retraso de crecimiento en niños sin carencia, aparte de que las consecuencias sobre el desarrollo podrían deberse no específicamente a la falta de hierro, sino a una dieta globalmente inadecuada.

Puesto que el órgano más vulnerable a la desnutrición es el cerebro, durante su periodo de máximo crecimiento, entre los 6 y 23 meses, se debe tratar tanto la anemia como la ferropenia sin anemia, investigar y tratar en su caso otras deficiencias nutricionales, mantener el tratamiento hasta la corrección de las anormalidades bioquímicas y asegurar un adecuado seguimiento; sin olvidar la toma de medidas políticas para mitigar las condiciones socioambientales desfavorables. Hay una correlación directa entre la gravedad de la carencia férrica y las repercusiones cognitivas y conductuales, sin olvidar la contribución de diferentes tipos de desnutrición (p. ej., intoxicación por plomo) o carencia afectiva. Diversos autores resaltan que factores como la depresión materna, el bajo nivel educativo materno y escaso estímulo familiar, que habitualmente no son tenidos suficientemente en cuenta, pueden modular la repercusión de un déficit nutricional precoz y provocar errores en la predicción del desarrollo futuro.

La carencia severa y crónica de hierro en un lactante le identifica como portador a largo plazo de un riesgo de padecer un trastorno del desarrollo y conductual, incluso después de un tiempo prolongado en ferroterapia. En algunos, pero no en todos los estudios, los niños con anemia tratados con hierro no pudieron obtener el mismo desarrollo que los no anémicos, bien porque su escaso desarrollo no era debido a la anemia o porque el efecto no era corregible por el tratamiento sólo con hierro, al menos a corto plazo. Este dato es sorprendente si se tiene en cuenta la plasticidad del desarrollo del niño; aunque, por otra parte, existe un periodo de vulnerabilidad al déficit de yodo y no se dispone de evidencias suficientes acerca de que los 2 primeros años de vida puedan ser críticos respecto de la desnutrición calórico-energética. Pudiera ser que la mejora de las diversas desventajas psicosociales, económicas y biomédicas sea necesaria para que los niños anémicos logren su *catch-up*. El hecho de que estos niños necesitarán un apoyo extra en sus años escolares, supone un fuerte argumento a favor de la utilización profiláctica de hierro (de bajo coste tanto como profilaxis como en tratamiento individual), aunque puedan estar implicados otros factores. Una mejoría significativa de la función cerebral precisaría de tratamiento prolongado, y en caso de fracaso podría revelar otras causas distintas del déficit de hierro.

Para los niños con anemia menores de 2 años no existen evidencias consistentes acerca de que el tratamiento con hierro a corto plazo beneficie su desarrollo. Las evidencias en este sentido obte-

nidas con ensayos de tratamiento a largo plazo son insuficientes para extraer conclusiones o extrapolar datos a otras poblaciones, siendo precisos estudios de tratamiento aleatorizados y controlados que estudien los efectos a corto y largo plazo.

Los niños anémicos mayores de 2 años poseen habitualmente unas habilidades cognitivas y un aprendizaje escolar más escaso que los no anémicos, suelen hacer un *catch-up* en capacidad cognitiva tras exploraciones y tratamientos repetidos, pero no mejoran el aprendizaje escolar. En esta franja de edad se han realizado más estudios de tratamiento aleatorizados y controlados, y la mayoría de ellos muestran, sin lugar a dudas, el efecto beneficioso del hierro, por lo que en el momento presente se dispone de evidencias razonablemente convincentes acerca del efecto beneficioso de la corrección de la anemia ferropénica sobre las habilidades cognitivas. Teniendo en cuenta las evidencias en este grupo de edad, sería sorprendente que el tratamiento con hierro no afectara favorablemente al desarrollo intelectual de los niños anémicos menores de 2 años. Finalmente, respecto a la profilaxis con hierro, y aunque los datos son limitados, puede producir beneficios sobre el desarrollo, pero de magnitud pequeña y transitoria.

4.5. Repercusión sobre la capacidad y habilidad física

Algunos estudios indican que la suplementación con hierro y vitaminas tiene un efecto positivo sobre la actividad física de los niños, pero no se observa tal beneficio si se aportan por separado las vitaminas y el hierro. Los trabajos acerca de la relación entre hierro y actividad física en niños no son concluyentes por la gran dificultad para controlar múltiples factores que pueden modificar dicha relación.

En la anemia ferropénica el descenso en la concentración de hemoglobina y del hierro tisular disminuye la capacidad atlética por menor transporte de oxígeno al músculo con reducción de los procesos de oxidación tisular, salvo en situación de reposo, a pesar de la mayor extracción de oxígeno por los tejidos, debido al desplazamiento hacia la derecha de la curva de disociación de la hemoglobina y del aumento del volumen minuto cardiaco. Además, en el músculo ocurre un descenso muy significativo de la concentración de mioglobina y de los citocromos celulares, tanto de los hierro-sulfurados como los que contienen el grupo hemo, con el consecuente descenso de la capacidad aeróbica tisular. Aunque la máxima captación de oxígeno depende, en primer lugar, de la capacidad de transporte de la sangre, la adquisición de una buena forma física, por el entrenamiento crónico mediante ejercicios de intensidad reducida, está más estrechamente relacionada con las concentraciones del hierro tisular, como pone de manifiesto la fuerte asociación entre la capacidad para realizar un ejercicio prolongado y la actividad de las enzimas oxidativas dependientes de hierro. A pesar de que el hierro no hemo asociado a los sistemas enzimáticos constituye sólo el 1% del hierro corporal total, los déficit de estas enzimas celulares disminuyen la capacidad atlética. Las enzimas piruvato y malato-oxidasa disminuyen un 35% en el músculo deficiente en hierro y se recuperan hasta un 85% de su valor normal tan sólo en 10 días de tratamiento. Tras el ejercicio, la concentración de lactato en sangre es mayor en sujetos anémicos.

En muchas personas que hacen ejercicio de forma regular el estado de las reservas de hierro es deficiente, y las mujeres atletas tienen aún mayores probabilidades de hacer un balance negativo de hierro. En los atletas, se ha documentado un menor recuento eritrocitario, así como un descenso de hemoglobina y de ferritina, que alcanza una mayor prevalencia en los corredores de fondo. El hallazgo más corroborado es el descenso de ferritina en mujeres atletas, aunque sin una repercusión aparente en su rendimiento físico, y que puede prevenirse con un simple cambio dietético, como es la ingesta de carne una vez al día. Aunque la elección del tipo de dieta pueda explicar la mayor parte del balance negativo de hierro, mediante el empleo de isótopos estables de hierro se dispone de evidencias acerca de un *turnover* acelerado del hierro eritrocitario y corporal en los atletas, siendo poco probable, en cambio, que exista una menor absorción o mayor pérdida gastrointestinal o urinaria (hemoglobinuria tras el ejercicio intenso por lisis eritrocitaria debida al traumatismo continuado en los pies, o hematuria).

Las cantidades de ingesta recomendada diaria (CDR) definen las necesidades de hierro para lactantes, niños y adultos sanos, y necesidades

adicionales durante el embarazo y la lactancia, pero no se ha definido la ingesta recomendada para situaciones especiales. Los tres tipos de atletas con mayor riesgo de desarrollar un déficit de hierro son las mujeres atletas, los corredores de fondo y los atletas vegetarianos. Por esta razón, se recomienda que, sobre todo la atleta joven, valore la necesidad de suplementos de hierro a dosis bajas bajo supervisión dietética y médica para prevenir un descenso de sus reservas durante el entrenamiento. No se recomienda la ingesta profiláctica indiscriminada de hierro, puesto que, como mínimo, sitúa como marginal la promoción de unos adecuados hábitos nutritivos. Los preparados de sulfato, gluconato o fumarato ferroso aportan 37 mg de hierro elemental por unidad. Las dosis elevadas (por encima de 50 mg/día) se asocian a molestias gastrointestinales y estreñimiento, con el riesgo de menor cumplimiento terapéutico. Además, en personas con predisposición genética a un disbalance del hierro, puede ocurrir hemocromatosis tras su aporte suplementario.

No está aclarada la repercusión sobre el rendimiento atlético del aporte de hierro en caso de descenso aislado de la ferritina, sin sintomatología clínica, aunque parezca mejorar la capacidad para el entrenamiento físico y ocurra una menor dependencia de la glucosa como substrato oxidativo.

4.6. Repercusión sobre el sistema inmune

La mayor parte de las investigaciones aseguran que hay un aumento de los procesos diarreicos, infecciones respiratorias y meningitis en la población infantil con anemia ferropénica, pero también se asegura que los niños pueden ser anémicos por las infecciones repetidas. Hay que tener en cuenta que la mayor parte de los niños que han formado parte de los distintos estudios pertenecen a países tropicales, donde, además de la carencia férrica, existen otros déficit nutricionales y quizás sea el conjunto de todos ellos lo que pueda provocar la inmunodepresión.

En humanos, se han documentado dos tipos de anormalidades en la función inmunitaria en relación con la deficiencia de hierro: una respuesta alterada de los linfocitos T ante los mitógenos y una disminución de la actividad bactericida de los neutrófilos, debido en ambos casos a una menor actividad de las enzimas dependientes del hierro. Por otra parte, también se ha demostrado el papel protector de la transferrina y de la lactoferrina en defensa frente a la infección. En presencia de infección, los parámetros hematológicos y bioquímicos relacionados con el hierro se ven alterados; se produce una disminución de la hemoglobina, sideremia y transferrina, y un aumento de la ferritina sérica, simulando una anemia carencial.

4.7. Repercusión de la anemia ferropénica materna sobre el feto

Las evidencias acerca de la asociación entre baja hemoglobina materna y bajo peso al nacer/parto prematuro no son concluyentes debido al diseño inadecuado de los estudios. No obstante, los mecanismos fisiopatológicos que hacen plausible la implicación de las reservas orgánicas de hierro en el parto prematuro y en el crecimiento intrauterino retardado se pueden resumir como sigue:

1. El déficit de hierro aumenta la concentración de hormonas de estrés como la adrenalina, noradrenalina y el cortisol, e incrementa fuertemente la producción de CRH (hormona liberadora de corticotropina). El estrés puede ser definido como una homeostasis para situaciones de peligro mediante la puesta en marcha de un complejo repertorio de respuestas adaptativas fisiológicas (que derivan la energía, oxígeno y nutrientes hacia el sistema nervioso central y otros órganos vitales) y conductuales.

2. La hipoxia crónica (baja hemoglobina, bajo transporte de oxígeno a los tejidos) activa las respuestas de estrés tanto de la madre como del feto, con incremento de liberación de CRH (tanto de origen materno como fetal y placentario), como regulador primario del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal. La administración de CRH reproduce la mayoría de las respuestas fisiológicas y conductuales al estrés, incluyendo la producción de ACTH por la hipófisis y de glucocorticoides por las adrenales. Los sistemas encargados de la reproducción, crecimiento e inmunidad, al igual que la conducta y la emoción, están muy influenciados por los sistemas de estrés.

3. El estrés materno está asociado al parto prematuro y al bajo peso. La concentración materna de CRH se ha mostrado como un buen predictor del riesgo de parto prematuro. El bajo peso se asocia, además, a un descenso de la concentración del factor de crecimiento análogo a la insulina I (IGF-1), la principal hormona responsable del crecimiento fetal.

4. La hipoxia crónica se asocia con el bajo peso al nacer. En las embarazadas que viven en altitud, el parto no se adelanta, pero el peso fetal es menor, lo que sugiere una limitada adaptabilidad materna a menores concentraciones parciales de oxígeno, al igual que ocurre con el hábito tabáquico, también asociado a bajo peso fetal.

5. La anemia ferropénica incrementa el estrés oxidativo. La unidad fetoplacentaria es muy susceptible al daño inducido por las especies oxidativas de oxígeno. El estrés oxidativo es uno de los mecanismos de la preeclampsia y de la diabetes gestacional. El disbalance entre oxidantes y antioxidantes puede liberar productos de la peroxidación lipídica a la circulación fetal con daño subsiguiente de las membranas celulares endoteliales. El déficit de hierro hace más susceptibles los eritrocitos al daño oxidativo, reduciendo la vida media eritrocitaria, a pesar de los mecanismos habituales (superóxido dismutasa, glutatión reducido y catalasa) que protegen a los eritrocitos de la peligrosa combinación de hierro y oxígeno. En la anemia ferropénica se ha demostrado un mayor contenido en malondialdehído y superóxido dismutasa por unidad de hemoglobina, así como descenso de enzimas sensibles *in vivo* al daño por grupos hidroxilo. Diversos estudios de experimentación animal han concluido que las ratas deficitarias en hierro son más susceptibles al estrés oxidativo y menos capaces de eliminar radicales libres.

6. El déficit de hierro aumenta el riesgo materno de infección, al modificar la proliferación de las células T y B, reducir la actividad bactericida celular natural, así como la de los fagocitos y neutrófilos. Además, la infección es uno de los principales mecanismos patogénicos del parto prematuro. Los mediadores inflamatorios (p. ej., la interleukina-1) estimulan la producción de CRH, que a su vez regulan la producción de citokinas por las células efectoras inmunes. Éste podría ser un mecanismo fisiopatológico que explicase la asociación entre estrés materno y parto prematuro.

5. Diagnóstico de la carencia de hierro

En el diagnóstico de la deficiencia de hierro hay que realizar una encuesta nutricional, anamnesis detallada y examen físico, para poner de manifiesto la existencia de factores predisponentes y/o síntomas relacionados con la ferropenia. Posteriormente, se procede a su confirmación mediante pruebas complementarias, o con una prueba terapéutica con hierro que resulte positiva.

En la encuesta nutricional se intenta establecer si la ingesta de hierro en la dieta es adecuada en cantidad y calidad. La anamnesis y el examen físico pondrán de manifiesto factores favorecedores (prematuridad, bajo peso al nacimiento, bajo nivel socioeconómico, enfermedad de base que predisponga al sangrado crónico, etc.) y síntomas relacionados con la ferropenia. La prueba terapéutica con hierro se considera positiva cuando la administración de hierro a 2-4 mg/kg/día durante un mes se traduce en un aumento de la hemoglobina de al menos 1 g/dl, y 3 fl en el VCM. Debería utilizarse sólo en aquellos casos en que exista imposibilidad de realizar los tests confirmatorios del déficit de hierro, con el fin de evitar la administración de hierro a personas que no lo precisan, por los efectos negativos que pudiera conllevar.

5.1. Tests diagnósticos

Puesto que el hierro se destina prioritariamente a la producción de eritrocitos, la anemia no aparece hasta que se agotan las reservas (ferritina sérica baja, descenso del porcentaje de saturación de la transferrina). Los datos bioquímicos de déficit de hierro más precozmente detectables son el incremento de protoporfirina libre (PEL) y protoporfirina-zinc en los eritrocitos, y el aumento del receptor soluble de transferrina en plasma. Un indicador muy útil y precoz es el descenso de la concentración de hemoglobina en los reticulocitos. Cada vez se recurre menos a la valoración del contenido de hierro en el aspirado de médula, por ser una técnica invasiva y de valoración subjetiva, aunque aún se la considere como el estándar de oro para el diagnóstico de la ferropenia.

Las pruebas complementarias ofrecen información acerca de la situación de cada uno de los

Tabla 7. LÍMITE INFERIOR DE NORMALIDAD (95% DE LA DISTRIBUCIÓN), SEGÚN EDAD, DE LOS PRINCIPALES PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS UTILIZADOS EN EL DIAGNÓSTICO DEL DÉFICIT DE HIERRO

Edad (a)	Hemoglobina (g/dl)	Hematocrito	VCM (fl)
1-2	11	33	70
3-5	11	33	73
6-8	11,5	34	75
9-11	11,5	34	76
12-14			
M	11,5	34	78
H	12,5	35	77
15-17			
M	11,5	35	79
H	13	39	78
18-44			
M	12	35	80
H	13,5	40	80

VCM: volumen corpuscular medio; M: mujer; H: hombre.

compartimentos del hierro, con una sensibilidad, especificidad y variabilidad concreta para cada una de ellas, y con una utilidad menor en la infancia por la elevada frecuencia de procesos infecciosos que las alteran. La ferritina sérica valora el hierro de reserva, la sideremia el hierro de transporte y el hierro funcional el resto de parámetros habituales: hemoglobina, índices eritrocitarios, capacidad de fijación del hierro (CFH), índice de saturación de la transferrina (IST), protoporfirina eritrocitaria libre (PEL) y el receptor sérico de transferrina (RsTf).

El hemograma es la prueba complementaria básica e inicial en el diagnóstico de la ferropenia, disponible en cualquier nivel asistencial. Los analizadores automatizados ofrecen no sólo el recuento de hematíes, hemoglobina y hematocrito, sino también los índices eritrocitarios, que sugieren la causa de la anemia.

Se define como anemia un valor de hemoglobina o hematocrito por debajo del percentil 5 de la población de referencia. En consecuencia, la valoración de la serie roja debe tener en cuenta la edad, sexo, raza y altitud. A partir de los 6 meses de vida y hasta el inicio puberal se consideran patológicos valores de hemoglobina inferiores a 11-11,5 g/dl, o hematocrito < 32-33% **(Tablas 7 y 8)**. Por razones desconocidas, este límite inferior de normalidad es más bajo en la población negra: 0,4 g/dl menos para hemoglobina y un 1% menos para hematocrito, en niños menores de 5 años; y 0,8 g/dl y un 2% menos, respectivamente, en los adultos.

Debido a la disminución de la prevalencia de la carencia de hierro, la sideremia ya no sirve como *screening* de la anemia, siendo necesario recurrir a indicadores como ferritina o PEL, o a realizar un hemograma a la población en riesgo.

Índices eritrocitarios. Los índices eritrocitarios automatizados tienen un escaso margen de error. Son el **volumen corpuscular medio** (VCM, en fentolitros) para evaluar la microcitosis; la **hemoglobina corpuscular media** (HCM) y la **concentración de hemoglobina corpuscular media** (CHCM) para la hipocromía, y el **ancho de distribución eritrocitaria**

Tabla 8. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS UTILIZADOS EN EL DIAGNÓSTICO DEL DÉFICIT DE HIERRO EN NIÑOS PREPUBERALES; LÍMITE INFERIOR DE LA NORMALIDAD (95% DE LA DISTRIBUCIÓN)

Edad (años)	Sideremia (μg/dl)	CFH (pg/dl)	IST (%)	Ferritina (ng/ml)	PEL (μg/dl)
1-2	30	< 480	10	10	< 80
3-5	30	< 470	12	10	< 70
6-8	30	< 460	14	12	< 70
9-11	40	< 470	14	12	< 70

CFH: capacidad de fijación del hierro; IST: índice de saturación de la transferrina; PEL; protoporfirina eritrocitaria libre.

(ADE) y el **índice de Mentzer** (VCM/n° de hematíes x 10^{6-}), que definen el grado de anisocitosis eritrocitaria.

La macrocitosis es uno de los mecanismos para hacer frente a la hipoxia tisular fisiológica durante la vida fetal, alcanzando el VCM [hematocrito/(n.° de hematíes x 10^{12}/l) x 10] al nacimiento valores de 110-120 fl, que van disminuyendo durante los primeros seis meses de vida por la hipoplasia medular fisiológica, y van incrementándose gradualmente durante la niñez. Valores < 70-75 fl (< P5) son patológicos e indicadores de ferropenia en la infancia. Un VCM anormalmente bajo es bastante específico para anemia ferropénica, aunque hay microcitosis en la talasemia minor, intoxicación por plomo, en presencia de hemoglobina E y, en ocasiones, en infecciones y enfermedades crónicas o inflamatorias. El dígito 13 para el índice de Mentzer separa la anemia ferropénica (> 13) de la talasemia minor (< 13). A diferencia de la anemia ferropénica, en la talasemia minor el número de hematíes suele estar bastante elevado con una disminución muy llamativa del VCM.

La hipocromía se define por un valor de hemoglobina corpuscular media inferior a 22-26 pg [HCM = hemoglobina (g/dl)/hematíes (10^6/μl) en pg] definen la hipocromía y son indicadores de ferropenia en la infancia; más aún en presencia de una concentración de hemoglobina corpuscular media [CHCM = hemoglobina (g/dl)/hematocrito (%)], < 32 g/dl. El ancho de distribución eritrocitaria [ADE (%) = (desviación estándar del volumen de las células rojas (fl)/VCM (fl) x 100] mide la variabilidad en el tamaño de las células rojas (anisocitosis), y tiene un rango de normalidad en la infancia de 11,5-14,5%. Su valoración conjunta con el VCM es útil en el diagnóstico diferencial de las anemias microcíticas. En todas ellas, por definición, el VCM es anormalmente bajo, pero en la anemia ferropénica el ADE está elevado y, en cambio, en la β-talasemia, α-talasemia heterocigótica y en la anemia de enfermedad crónica, el ADE es normal.

El contenido medio de hemoglobina en reticulocitos (CHr) es una medida útil para evaluar la suficiencia de hierro destinado a eritropoyesis como marcador precoz de la deficiencia funcional de hierro, puesto que los reticulocitos tienen una vida media de sólo 1-2 días. Una CHr < 26 pg predice la deficiencia de hierro en la infancia.

5.2. Tests confirmatorios

En general, se utilizan para confirmar la etiología ferropénica de una anemia microcítica e hipocroma detectada en el hemograma, o bien para detectar estadios más precoces de carencia de hierro se dispone de una amplia batería de tests bioquímicos. En distintas tablas se recogen los parámetros de laboratorio para el diagnóstico diferencial entre los tres estados funcionales del hierro **(Tabla 9)**; estudios de laboratorio en los distintos estadios del déficit de hierro **(Tabla 10)**; diagnóstico de la anemia microcítica **(Tabla 11)** y, por último, el diagnóstico de las anemias hipoproliferativas **(Tabla 12)**.

Tabla 9. PARÁMETROS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE LOS TRES ESTADOS FUNCIONALES DEL HIERRO

	Deficiencia absoluta de hierro	Deficiencia funcional de hierro	Bloqueo inflamatorio de hierro
Sideremia	↓	↓	↑
Capacidad total de fijación de hierro	↑	↑	↓
Saturación de transferrina	< 20%	< 20%	< 20%
Ferritina sérica	< 10 ng/ml	10-70 ng/ml	10-70 ng/ml
Hb/Hto	↓	↓	↓
Proteína C-reactiva	*	*	↑
CHr	↓	↓	*
% eritrocitos hipocrómicos	> 10%	> 10%	*
Receptor soluble de transferrina	↑	↑	Normal

** No evaluado; Hb: hemoglobina; Hto: hematocrito; CHr: concentración de hemoglobina en reticulocitos.*

5.2.1. Sideremia

La sideremia mide la cantidad total de hierro circulante tras su absorción y antes de ser utilizado. Por estar sujeta a numerosas fluctuaciones, incluso intraindividuales, y en función de la técnica de medición, es la prueba confirmatoria del déficit de hierro con menor sensibilidad y especificidad. Un valor < 30 mg/dl es indicativo de ferropenia en la infancia. La sideremia es más elevada si la medición se hace por la mañana (variabilidad circadiana) o tras ingestión de hierro dietético o medicamentoso. Es más baja en presencia de procesos inflamatorios o infecciosos, por escasa utilización desde el *pool* de reserva, sin disminución concomitante del hierro corporal, pudiendo conllevar el diagnóstico erróneo de ferropenia. Las citokinas inflamatorias procedentes de células tumorales o de lisis bacteriana (factor de necrosis tumoral, interferón-β) suprimen la liberación de hierro por parte del sistema retículo-endotelial, la producción de eritropoyetina y la proliferación de los progenitores eritroides (BFU/CFU-E). En la ferropenia presente en las vasculitis y en la artritis reumatoide intervienen además la IL-1 y el interferón-γ.

5.2.2. Capacidad de fijación del hierro

Mide la cantidad de hierro que la transferrina es capaz de transportar. Es mayor cuando los depósitos están bajos. Los valores normales oscilan entre 200 y 400 μg/dl, siendo indicadores de ferropenia valores superiores a 460-480 μg/dl. Presenta menor variabilidad biológica y mayor variabilidad analítica que la sideremia; aunque como marcador de ferropenia se altera más tardíamente que la ferritina, cuando los depósitos se han depleccionado por completo. Disminuye en la inflamación, infección, neoplasia, enfermedad hepática, síndrome nefrótico y desnutrición (menor sensibilidad) y aumenta con la ingesta de anticonceptivos orales y el embarazo (menor especificidad).

Tabla 10. ESTUDIOS DE LABORATORIO EN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE DÉFICIT DE HIERRO

	Normal	Balance negativo de hierro	Eritropoyesis deficiente en hierro	Anemia ferropénica
Reservas de hierro	Completas	Escasas	Ausentes	Ausentes
Hierro en el eritrón	Adecuado	Adecuado	Insuficiente	Muy deficiente
Reservas de hierro en MO	1-3+	0-1+	0	0
Ferritina sérica	50-200	< 20	< 15	< 15
CTFH	300-360	> 360	> 380	> 400
Sideremia	30-150	Normal	< 50	< 30
% ST	30-50	Normal	< 20	< 10
Sideroblastos en MO	40-60	Normal	< 10	< 10
Protoporfirina eritrocitaria	30-50	Normal	> 100	> 200
Morfología eritrocitaria	Normal	Normal	Normal	Microcítica/ hipocroma

La valoración del contenido de hierro en médula ósea, la ferritina y la CTFH detectan precozmente la depleción de los depósitos de hierro. La eritropoyesis deficiente en hierro se diagnostica mediante la valoración de sideremia, el porcentaje de saturación de transferrina, el patrón de sideroblastos en médula ósea y la concentración de protoporfirina eritrocitaria. En la anemia ferropénica están presentes todas las anormalidades junto a la anemia microcítica hipocrómica. CTHF: capacidad total de fijación de hierro; % ST: porcentaje de saturación de transferrina; MO: médula ósea.

5.2.3. Índice de saturación de la transferrina

El índice de saturación de la transferrina (IST) es el cociente entre la sideremia y la CFH, expresado como porcentaje. Es más bajo cuanto más baja sea la sideremia y mayor la CFH, puesto que en la molécula de transferrina hay muchos sitios vacíos de unión para el hierro.

El IST presenta valores altos en neonatos, disminuye hasta los 4 meses de edad y posteriormente tiende a incrementarse durante la niñez y adolescencia hasta parecerse a los valores presentes en el adulto. En adultos, por debajo de 16% de IST se confirma el déficit de hierro con una especificidad del 93%. En mujeres menstruantes la sensibilidad es más baja. En niños es indicativo de carencia férrica un valor < 8%. Es un indicador indirecto del déficit de hierro funcional con mayor valor diagnóstico que la sideremia y la CFH por separado, aunque está sujeto a las limitaciones de la sideremia y del CFH, descendiendo en presencia de cualquier enfermedad inflamatoria concurrente.

5.2.4. Ferritina sérica

La ferritina sérica mide los depósitos de hierro en individuos sanos, siendo el descenso un indicador precoz de ferropenia. Individualmente considerada es el mejor indicador del estado del hierro corporal, estimándose que 1 μg de ferritina por litro de suero equivale a 8 mg de hierro almacenado. Los valores medios corresponden a 135 ng/ml en adultos varones, 43 ng/ml en mujeres adultas y 30 ng/ml en niños mayores de 6 meses; con un rango entre 20 y 200 ng/ml (medida por RIA o ELISA). Independientemente de la edad,

Tabla 11. DIAGNÓSTICO DE LA ANEMIA MICROCÍTICA

Tests	Déficit de hierro	Inflamación	Talasemia	Anemia sideroblástica
Tinción	Micro/hipocrómica	Normal micro/hipocrómica	Micro/hipocrómica	Variable
Sideremia	< 30	< 50	Normal o elevada	Normal o elevada
CTFH	> 360	> 300	Normal	Normal
%ST	< 10	10-20	30-80	30-80
Ferritina (μg/l)	< 15	30-200	50-300	50-300
Patrón de hemoglobina	Normal	Normal	Anormal	Normal

CTFH: capacidad total de fijación de hierro.

Tabla 12. DIAGNÓSTICO DE LAS ANEMIAS HIPOPROLIFERATIVAS

Tests	Déficit de hierro	Inflamación	Insuficiencia renal	Estados hipometabólicos
Anemia	Leve a grave	Leve	Leve a grave	Leve
VCM (fl)	70-90	80-90	90	90
Morfología	Normo-microcítica	Normocítica	Normocítica	Normocítica
Sideremia	< 30	< 50	Normal	Normal
CTFH	< 360	< 300	Normal	Normal
Saturación (%)	< 10	10-20	Normal	Normal
Ferritina sérica (μg/l)	< 15	30-200	115-150	Normal
Reservas de hierro	0	2-4+	1-4+	Normal

VCM: volumen corpuscular medio; CTFH: capacidad total de fijación de hierro.

valores < 10 ng/ml en niños o < 12 ng/ml en adultos son indicadores de depleción de depósitos de hierro, con una especificidad del 100%, porque ninguna condición clínica distinta a la deficiencia de hierro cursa con niveles de ferritina inferiores. La sensibilidad en cambio es sólo del 61%, porque hay situaciones de déficit de hierro con ferritina sérica superior al valor límite, en buena medida porque es un reactante de fase aguda y en casos de hepatitis, neoplasias, artritis, insuficiencia renal crónica, infecciones o enfermedades inflamatorias crónicas, puede haber un incremento de ferritina independiente del estado de hierro. La correlación entre valores de ferritina y depósitos reales de hie-

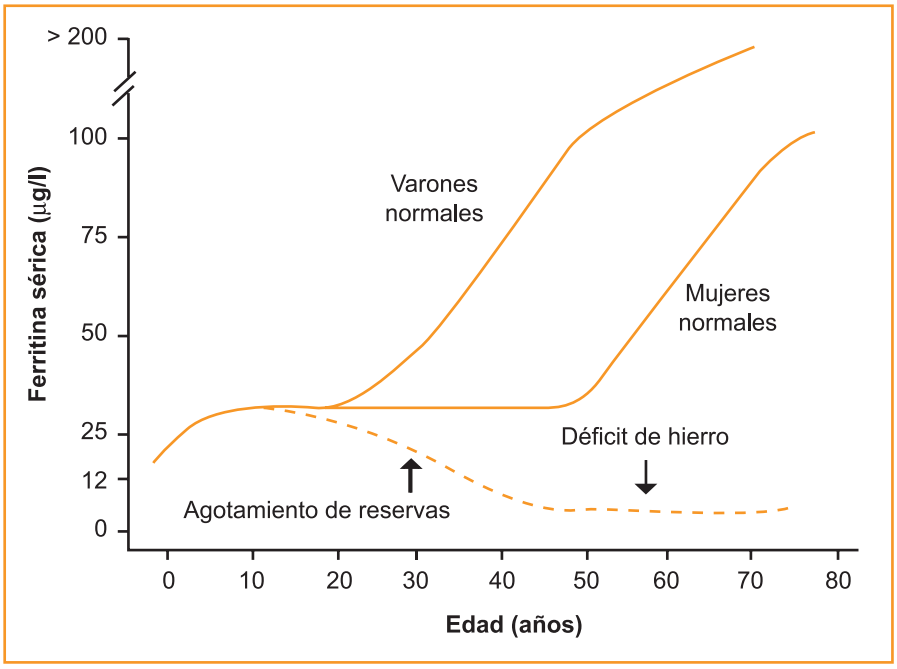


Figura 3. *Concentración de ferritina sérica en adultos, en función de la edad y el sexo. El agotamiento de los depósitos y el déficit de hierro se asocian al descenso de la ferritina sérica por debajo de 20 µg/l.*

rro se pierde también en casos de sobrecarga de hierro por hemocromatosis, o cuando los depósitos son inferiores a 2 g. En la **Figura 3** se expone un diagrama de la concentración de ferritina sérica en adultos, en función de la edad y sexo.

5.2.5. Protoporfirina eritrocitaria libre

La protoporfirina eritrocitaria libre (PEL) es la penúltima fase en la biosíntesis del hemo, anterior a la incorporación del hierro. La falta de hierro provoca un acúmulo de protoporfirina dentro del hematíe que pasa a la circulación. Informa del estado del compartimento de hierro funcional, con una sensibilidad del 42% y especificidad del 61%. No hay un consenso acerca del rango de normalidad de la PEL en lactantes.

En niños, valores > 80 µg/dl de eritrocitos en < 2 años y > 70 en los mayores de esa edad, son indicadores de déficit de hierro.

Otros laboratorios expresan el valor según mg de sangre total o mg/g de hemoglobina, siendo indicadora de ferropenia en el niño una concentración > 35 o > 3, respectivamente.

La PEL es un indicador precoz de la eritropoyesis ferropénica que sólo se altera una vez agotados los depósitos de hierro, no se modifica con la ingesta de hierro (sí lo hace la sideremia) y no vuelve a la normalidad hasta los 3-4 meses tras la corrección de la ferropenia con hierro medicamentoso, siendo un método simple con una variación intraindividual menor que la sideremia el IST. Sin embargo, su uso no se ha generalizado en la práctica diaria.

La PEL se eleva en la infección o inflamación crónica y en la intoxicación por plomo, reduciéndose su utilidad como indicador de eritropoyesis ferropénica. En este sentido, hay una fuerte asociación entre la toxicidad por plomo y el déficit de hierro debido al mecanismo de absorción intestinal de ambos metales.

En individuos ferropénicos, el aumento de absorción de hierro se acompaña de un aumento de entrada de plomo, predisponiendo a la toxicidad por este metal. La elevación de PEL sólo es de mayor magnitud que en la anemia ferropénica en las intoxicaciones por plomo.

En lactantes, la corrección de los distintos grados de déficit con hierro oral conlleva un descenso rápido y eficaz de la concentración de plomo.

En este grupo de pacientes, la plumbemia sólo se incrementa en los tratados con hierro intramuscular y en los lactantes sanos que recibieron placebo.

5.2.6. Receptor soluble de la transferrina

El receptor sérico de la transferrina (RsTf) es la forma truncada (sin los dominios citoplasmático y transmembrana) del RTf celular, que procede en un 75% de los precursores medulares eritroides.

Es un monómero de 85 kDa que transporta una molécula de transferrina, con un peso molecular conjunto de 250.000 Da. En ausencia de patología, puede encontrarse en plasma < 1% de receptores intactos, diméricos; porcentaje que aumenta en la depranocitosis, anemia hemolítica autoimnune y púrpura trombocitopénica. La concentración de receptores circulantes es proporcional a la de los receptores de membrana, suponiendo alrededor del 6% del total.

La concentración media de RsTf en sujetos sanos es diferente según la técnica utilizada: mediante anticuerpos monoclonales contra el receptor tisular, 0,25 ± 0,08 mg/l; por ELISA (***E**nzyme-**L**inked **I**mmuno **S**orbent **A**ssay*) valores 20 veces superiores: 5,6 mg ± 1,42 mg/l; y mediante anticuerpos policlonales (ELISA) contra el complejo transferrina-receptor, entre 5 y 8,3 mg/l. Los *kits* comerciales han contribuido a su introducción progresiva como técnica rutinaria, a pesar de la falta de estandarización. La variabilidad de la medición responde a la naturaleza del anticuerpo (monoclonal o policlonal), tipo del estándar (receptor intacto libre unido a la transferrina o receptor truncado aislado en suero), marcador utilizado (^{125}I, enamas -peroxidasa o fosfatasa alcalina-), tipo de señal emitida (radiactividad, fotometría, fluorescencia, nefelometría) o la naturaleza del cromógeno usado para las técnicas fotométricas.

Los valores del RsTf obtenidos en la infancia son superiores a los de la edad adulta como reflejo de su precariedad en hierro funcional. No hay diferencias entre varones y mujeres; y sí diferencias raciales (los negros tienen niveles de RsTf un 9% superior a los caucásicos, asiáticos o hispanos, quizá por su menor concentración de hemoglobina); en función de la altitud del entorno (RsTf un 9% superior respecto al nivel del mar); y, finalmente, una variabilidad intraindividual circanual del RsTf estimada en un 11,7%, mucho menor que para la ferritina (29,3%) o para la sideremia (39,2%). En la variabilidad de la concentración de RsTf también influyen variables inmunológicas como la IL-2, por ser capaz de activar el gen del receptor de la transferrina. Otros factores que modifican su concentración (actividad eritropoyética, cantidad de hierro intracelular y el momento del ciclo celular) son los mismos que para el receptor de membrana, puesto que su concentración es proporcional a la expresada en la superficie de las células.

En el adulto normal, el 80% de los receptores de la transferrina del organismo se encuentran en la médula eritroide, existiendo una buena correlación entre el nivel del receptor sérico y las medidas ferrocinéticas de eritropoyesis. La concentración de RsTf está descendida en las anemias aplásicas, incluso en la anemia de la insuficiencia renal crónica y en la debida a quimioterapia, y elevada en los procesos asociados a hiperplasia eritroide (anemia hemolítica autoinmune, esferocitosis hereditaria, anemia drepanocítica y talasemia). En la ferropenia existe un aumento de los receptores de transferrina, tanto en células eritroides como no eritroides, siendo la aportación de estas últimas (en la ferropenia marcada) un factor que disminuye su utilidad diagnóstica.

La cantidad de hierro intracelular constituye el principal determinante de la concentración de RsTf, siendo sus niveles hasta un 25% más bajos en la hemocromatosis idiopática y hasta un 20% más altos en la ferropenia sin anemia. Los niveles del RsTf aumentan rápidamente cuando se agotan los depósitos de hierro y aparece la deficiencia funcional (ferritina < 12 ng/ml), y en relación directa con la severidad del déficit. En la fase S del ciclo celular hay un aumento del receptor de membrana (lo que explica su incremento en la superficie de células tumorales) y una disminución en la fase de diferenciación.

En la infancia, la anemia microcítica puede obedecer a causas distintas a enfermedades crónicas o déficit de hierro. Las infecciones, los procesos inflamatorios, la talasemia minor y, menos frecuentemente, la intoxicación por plomo pueden plantear problemas de diagnóstico diferencial con la deficiencia de hierro y en ocasiones coexistir con ferropenia. La medida del RsTf puede contribuir junto a los parámetros diagnósticos clásicos a esclarecer la etiología de la anemia. En la **Tabla 11**, se recogen las alteraciones de los parámetros relacionados con el metabolismo del hierro en anemias microcíticas de distinta etiología.

El receptor sérico de la transferrina puede diferenciar la anemia ferropénica de la producida por procesos inflamatorios o enfermedades crónicas, y, más importante aun, identificar los pacientes con procesos crónicos, tanto niños como adultos, que son a su vez ferropénicos. En un grupo de niños con anemia por inflamación (hemoglobina < 11 g/dl; IST < 16% junto a ferritina sérica > 50 ng/ml),

el RsTf y el índice RsTf-F alcanzan valores de 5,6 ± 1,6 mg/l y 3,1 ± 0,9 respectivamente, significativamente inferiores a los encontrados en el grupo de niños con anemia ferropénica (RsTf: 10,4 ± 5,2 mg/l; índice RsTf-F: 13,2 ± 12,8). En la enfermedad inflamatoria intestinal, los niños con anemia ferropénica tienen un RsTf más elevado (8,2 ± 3,1 mg/l) que los afectos de anemia por enfermedad crónica (5,3 ± 2,3 mg/l), con un cociente RsTf/ferritina de 84 (rango: 17-367) en la población control, estableciéndose un valor límite en 350 para establecer el diagnóstico de anemia ferropénica en niños con enfermedad inflamatoria intestinal, con un 91% de sensibilidad, 100% de especificidad, 100% de valor predictivo positivo y un 98% de valor predictivo negativo. También en niños con artritis reumatoide juvenil, una elevación del RsTf es capaz de distinguir la anemia ferropénica de la debida a enfermedad crónica. Además, el RsTf es útil como marcador de deficiencia de hierro para monitorizar la respuesta al hierro intravenoso en ausencia de respuesta al hierro oral.

Por el contrario, la similitud de las variables hematológicas y bioquímicas entre la β-talasemia y la ferropenia, con un moderado incremento en la actividad eritropoyética en la talasemia, puede llevar al solapamiento de la concentración de RsTf entre talasémicos y ferropénicos, con escasa utilidad del RsTf en el diagnóstico de la ferropenia asociada a la talasemia minor. A pesar de todo, el incremento del RsTf en la talasemia es significativamente menor que en presencia de anemia ferropénica. Por otra parte, la concentración de RsTf es el mejor marcador del grado de supresión medular en niños con talasemia mayor multitransfundidos, indicando su elevación la necesidad de proceder a la transfusión. En otra patología, la malaria, los enfermos tienen concentraciones de RsTf mayores a las descritas en la anemia ferropénica, no siendo útil su determinación para el diagnóstico de ferropenia.

La utilidad del RsTf también se ha valorado en el cáncer y en la insuficiencia renal crónica. En pacientes pediátricos con cáncer, no existe una correlación inversa entre el log RsTf y la hemoglobina, como indicación de que la concentración de RsTf en niños con cáncer de reciente diagnóstico y sometidos a quimioterapia es inadecuadamente baja para el grado de anemia, por descenso en la actividad eritropoyética medular y no por ausencia de producción de eritropoyetina, como ocurre en el cáncer del adulto. En el déficit de eritropoyetina sí se detecta la correlación inversa entre eritropoyetina y hemoglobina. En pacientes pediátricos dializados en tratamiento con eritropoyetina recombinante, el RsTf es un indicador sensible de la deficiencia funcional de hierro, superior a la ferritina y al IST. Si hay una elevación del RsTf, la continuación del tratamiento con hierro mejora la respuesta a la eritropoyetina. En resumen, la utilidad clínica del RsTf no hay duda de que ha sido suficientemente demostrada en adultos y niños.

5.3. Criterios de déficit de hierro en la infancia

El diagnóstico de la anemia ferropénica bien constituida es fácil siguiendo criterios morfológicos (hipocromía y microcitosis) **(Figuras 4a y 4b)** y analíticos. En cambio, en los estados de déficit de hierro leve o moderado algunos parámetros analíticos pueden solaparse con la normalidad, por la dificultad para seleccionar la población de referencia y el nivel de corte para cada parámetro, asumiendo sus modificaciones en relación a la edad. El valor de corte dependerá de la prevalencia de hierro en una zona determinada, P5 si la prevalencia es alta (para que no se dejen de diagnosticar ferropénicos), P2,5 si la prevalencia es baja.

El diagnóstico de la ferropenia también se ve dificultado por la variabilidad bioquímica de los parámetros y por la presencia de estados patológicos capaces de alterar los tests diagnósticos. Distintas situaciones patológicas como infecciones, enfermedades inflamatorias crónicas, talasemias, déficit vitamínicos y nutricionales pueden alterar los parámetros del hierro sin ferropenia concomitante o pueden coexistir con ferropenia, con los consiguientes problemas de diagnóstico diferencial que se solventan solicitando un "perfil" de exploraciones complementarias relacionadas, e incluyendo marcadores inflamatorios, al menos en niños pequeños, dada la elevada frecuencia de procesos infecciosos concurrentes en este grupo de edad.

Puesto que no existe una prueba única que diagnostique con una elevada sensibilidad y especi-

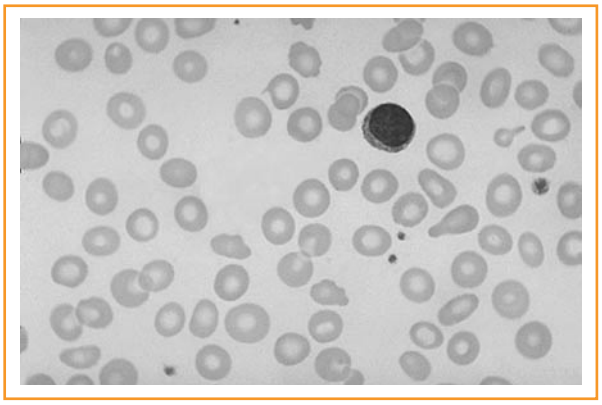


Figura 4a. *En una extensión sanguínea normal, los eritrocitos muestran una zona central de palidez que ocupa aproximadamente un tercio de su tamaño.*

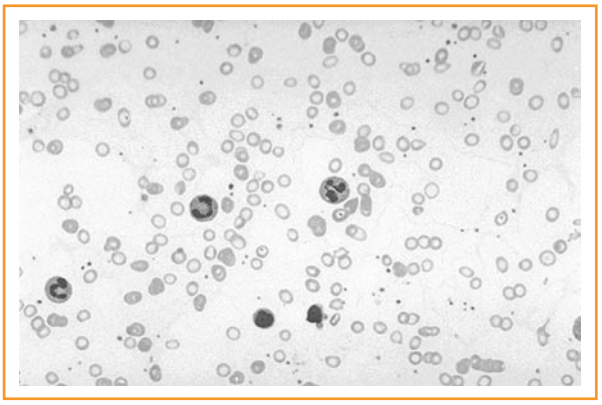


Figura 4b. *En la anemia ferropénica, el volumen corpuscular medio de los eritrocitos está descendido, la zona central pálida está aumentada, y los volúmenes y formas de los eritrocitos globalmente considerados son menos uniformes (anisocitosis incrementada y poiquilocitosis).*

ficidad la deficiencia de hierro, cada una de ellas va a informar sobre el estado de un compartimento determinado. Para aumentar su rentabilidad diagnóstica, se utilizan conjuntamente, estableciéndose criterios de deficiencia de hierro en sus diversos grados, reconocidos internacionalmente y que a falta de un estándar de oro óptimo son de amplia utilización. Se consideran tres estadios de ferropenia **(Tabla 10)**:

1. Depleción de depósitos de hierro o ferropenia latente. No entraña patología alguna, y está definido bioquímicamente, en la infancia, por un valor de ferritina sérica < 10-12 ng/ml.

2. Eritropoyesis ferropénica o ferropenia manifiesta. Bioquímicamente, en la infancia, según el rango de edad considerado, viene definido por la alteración de al menos dos de los tres parámetros siguientes: ferritina sérica < 10-12 ng/ml; IST < 10-14% y PEL > 70-80 pg/dl o, en su defecto, un VCM < 70-76 fl.

3. Anemia ferropénica. La carencia de hierro llega a afectar a la síntesis de hemoglobina. Cuando, además de las alteraciones bioquímicas antes indicadas, la hemoglobina desciende por debajo de 11-11,5 g/dl.

5.4. Prevalencia del déficit de hierro

Como se indicó al inicio de este Capítulo, la carencia de hierro es uno de los problemas nutricionales más frecuentes en el mundo. Entre 500 y 1.000 millones de personas sufren este déficit, lo que representa el 15-20% de la población mundial. La prevalencia de la anemia de origen nutricional oscila entre el 25 y el 50% en países en vías de desarrollo y entre un 2 y un 28% en países desarrollados.

En Estados Unidos, según encuestas realizadas entre 1988 y 1994 por el NHANES (publicadas en abril de 1998), el 9% de niños de 1-2 años y el 11% de las niñas adolescentes eran deficientes en hierro y, de éstos, presentaban anemia ferropénica el 3 y 2%, respectivamente. Diez años después (1999-2000), la prevalencia de ferropenia ha disminuido en los menores de 2 años, aumentando en el resto de los grupos de edad, sobre todo en las mujeres adolescentes.

En cambio, para la anemia ferropénica la tendencia ha sido decreciente, disminuyendo en los menores de 2 años del 3 al 2%. Aunque estos datos indican que la anemia ferropénica es poco frecuente, la prevalencia de ferropenia persiste por encima de objetivos establecidos para el año 2010, cifrados en el 5,1 y 7% para lactantes, preescolares y mujeres entre 12 y 49 años, respectivamente. La elevada frecuencia de ferropenia en mujeres fértiles se debe a distintos factores, entre ellos la ingesta dietética, paridad y el estado socioeconómico.

Una reciente revisión bibliográfica en la población española, incluyendo únicamente trabajos que cumplían unos criterios metodológicos estrictos, concluye que la prevalencia de ferropenia y ane-

Tabla 13. PREVALENCIA DE LA CARENCIA FÉRRICA EN LA POBLACIÓN ESPAÑOLA

	Ferritina baja (%)	Ferropenia (%)	Anemia ferropénica (%)
6 meses-3 años	18,7	15	5,7
Varones de 6-18 años	9,7-14	-	0,1-0,9
Mujeres adolescentes	10	5	1,6

mia ferropénica en España **(Tabla 13)** es similar a la de otros países europeos de nuestro entorno cercano.

En cambio, en los países nórdicos la prevalencia en niños pequeños es inferior a la observada en España. En 2001 se publicó un 7% de deficiencia de hierro y 2,3% de anemia ferropénica, en lactantes de 12 meses de 11 países europeos. En la edad escolar, no hay diferencias en prevalencia entre sexos.

5.5. Prevención de la carencia férrica

El Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) en colaboración con expertos en el área, publicó en *Morbility Mortality Weekly Report* (1998) recomendaciones específicas para la prevención, detección y tratamiento de la deficiencia en hierro.

Las tres principales estrategias para mejorar el estado férrico en individuos o poblaciones son:

a) La modificación de la dieta diaria.

b) La fortificación de los alimentos.

c) La suplementación con hierro.

Actúan incrementando la dosis diaria ingerida y la biodisponibilidad.

La modificación de la dieta, al objeto de aumentar los compuestos alimenticios que mejoran la absorción (carnes rojas, ácido ascórbico) y disminuir el contenido de elementos inhibidores (fitatos, calcio, compuestos fenólicos), puede no ser factible por factores culturales, socioeconómicos o geográficos.

La fortificación de los alimentos es una estrategia a largo plazo, con efectividad en función del compuesto de hierro seleccionado, su vehículo y su aceptación por los consumidores. Desde el punto de vista de la salud pública, es una estrategia de bajo coste que permite llegar a todos los segmentos de la población, sin necesidad de la cooperación de los individuos ni de los servicios de salud. El compuesto más usado es el sulfato ferroso, en ocasiones también el hierro elemental o el hierro-fumarato. El fortificante debe poseer buena biodisponibilidad, ausencia de modificación del sabor o color del alimento, escaso tamaño de las partículas, solubilidad y bajo coste. Las harinas de trigo o maíz, alimentos basados en el contenido de cereales y las fórmulas lácteas de continuación para lactantes, son los vehículos que habitualmente se suelen fortificar con hierro. En ocasiones, también la sal, el azúcar y el arroz.

El aporte suplementario con hierro, al contrario que la fortificación de los alimentos, requiere la colaboración del individuo y la participación de los servicios de salud, aparte de su mayor coste. Se ha podido comprobar cómo la suplementación semanal presenta mayor índice de cumplimentación, menor porcentaje de efectos secundarios y similar eficacia, aunque no hay un acuerdo generalizado al respecto.

5.5.1. Prevención en la infancia

La prevención primaria consiste en lograr una ingesta adecuada de hierro en la dieta, y tiene especial interés en lactantes y niños en edad de crecimiento, puesto que la elevada tasa de crecimiento predispone al vaciamiento de los depósitos a partir de los 4-6 meses. La prevención secundaria abarca el *screening*, diagnóstico y tratamiento del déficit del hierro. La recomendación de realizar el *screening* está basada en la pre-

valencia conocida del déficit de hierro para cada población específica.

La prevención primaria se basa en promover la lactancia materna hasta el año de edad, enfatizando que éste sea el único alimento en los menores de 4-6 meses; y desaconsejando formalmente el empleo de leche pobre en hierro (vaca u oveja) antes del primer año de vida. Las fórmulas infantiles suplementadas en hierro se indican en lactantes menores de un año que no han tomado pecho. En los nacidos pretérmino y en los de bajo peso al nacimiento (CIR) la Academia Americana de Pediatría (1998) recomienda empíricamente aportar hierro a 2-4 mg/kg/día de hierro, a partir del mes y hasta los 12 meses.

A partir de los 4-6 meses se recomienda introducir cereales enriquecidos en hierro, y desde los 6 meses alimentos ricos en vitaminas (frutas, verduras o zumo) y las comidas con carne. Entre el año y los 5 años de edad no se deben consumir más de 480 g de leche de vaca u oveja al día.

La prevención secundaria se basa en el *screening* para toda la población de alto riesgo de anemia ferropénica, haciendo controles analíticos entre los 9-12 meses, 15-18 meses, y anualmente desde los 2 a los 5 años. Es decir, coincidiendo con las visitas programadas de "niño sano". El *screening* en casos individuales se recomienda antes de los 6 meses para pretérminos y recién nacidos de bajo peso que no han recibido fórmulas enriquecidas en hierro. Se considera población de alto riesgo la de:

a) Lactantes pretérmino o bajo peso al nacimiento.

b) Alimentados con leche de vaca antes de los 9-10 meses de edad.

c) Alimentados al pecho que no reciben una dieta adecuada después de los 6 meses.

d) Consumidores de más de 480 g de leche al día.

e) Niños que precisan cuidados especiales de salud (medicamentos que interfieren con la absorción del hierro, procesos infecciosos o inflamatorios crónicos, dietas restrictivas o pérdidas de sangre por parasitosis, traumatismos o cirugía.

f) Dieta baja en hierro o situaciones de pobreza, negligencia o cuidados especiales.

Mediante la correcta realización de una historia alimentaria se puede identificar, con una sensibilidad del 97%, a los niños con riesgo de padecer una anemia microcítica ferropénica. Una dieta deficiente se define por:

a) Menos de 5 raciones/semana de carne, cereal, vegetal o fruta.

b) Más de 480 g de leche al día.

c) Toma diaria de aperitivos grasos, dulces o más de 450 g de bebidas no alcohólicas. En niños en edad escolar y adolescentes varones, sin otros factores de riesgo, sólo está indicado el *screening* en caso de historia personal con anemia por déficit de hierro.

5.5.2. Prevención y tratamiento en embarazadas

En la primera visita prenatal, en el primer trimestre de gestación, se deben solicitar un hemograma (serie roja) y ferritina, y si la hemoglobina es inferior a 9 g/dl o la hemoglobina se sitúa entre 9 y 10,9 g/dl con una ferritina > 30 ng/ml, se debe proceder a un estudio exhaustivo de la causa de la anemia. No se hará ningún tratamiento si la concentración de hemoglobina es ≥ 11 g/dl o la de ferritina es > 20 ng/ml, aportándose 30 mg de hierro suplementario si cualquiera de las dos determinaciones cae por debajo de esas cifras.

El aporte de hierro se subirá hasta 60-120 mg cuando la hemoglobina sea de 9-10,9 g/dl y la ferritina < 12 ng/ml. Si con esta estrategia no se corrige el déficit, se deberá buscar activamente la causa de la anemia; y si se corrigió disminuir la dosis a 30 mg de hierro por día.

La ferritina desciende en el segundo trimestre de gestación, pero su valoración sigue siendo útil para la interpretación del valor de hemoglobina.

También se debe proceder al estudio detallado de las pacientes con hemoglobina < 9 g/dl, tratamiento con 60-120 mg de hierro si la concentración de hemoglobina se sitúa entre 9 y 10,4 g/dl con una ferritina < 12 ng/ml. Con hemoglobina ≥ 10,5 g/dl el tratamiento dependerá del nivel de ferritina: si es ≤ 20 ng/ml se han de aportar 30 mg de hierro al día; si es mayor de esa cifra, no se precisa tratamiento.

5.5.3. Recomendaciones en mujeres en edad fértil

Entre los 15 y los 25 años se debería hacer un *screening* de anemia en todas las mujeres; cada

5-10 años en ausencia de factores de riesgo, y más frecuentemente en caso de paridad elevada, donaciones sanguíneas frecuentes, historia de anemia ferropénica, pobreza o inmigrantes recién llegados. Los valores de corte se deben situar por encima de los 12 g/dl para hemoglobina y 36 para hematocrito si la paciente es fumadora, elevando la cifra de hemoglobina 0,3 y 0,5, y la de hematocrito en 1 y 1,5%, para fumadores de 10-20 cigarrillos o por encima de ese valor, respectivamente. Para las pacientes que vivan en altitud por encima de los 5.000 m, se consideran valores de corte iguales a los de fumadores de más de 20 cigarrillos/día. Y recordando que el valor de corte para hemoglobina es 0,8 g/dl menor para mujeres de raza negra.

La mayoría de las mujeres no precisan suplementación con hierro, salvo si tienen factores de riesgo y planean un embarazo, recomendándose en tal caso 30 mg de hierro y 400 mg de folato por día, y añadiéndose un preparado de multivitaminas-minerales si hay riesgo de ingesta deficiente de nutrientes.

Los suplementos de hierro se deben ingerir entre comidas o antes de irse a dormir con agua o zumo, pero no con café, té o leche. Y deben mantenerse lejos de los niños, por ser una causa muy común de intoxicación en la infancia.

En caso de anemia, si la hemoglobina se sitúa entre 10 y 12 g/dl, se deben aportar 120 mg de hierro en dos tomas, junto a recomendaciones dietéticas, y control de la respuesta hematológica a los 30-45 días. La hemoglobina deberá incementarse al menos en 1 g/dl y el hematocrito en un 3%.

5.6. Modalidades de tratamiento del déficit de hierro

5.6.1. Hierro oral

El tratamiento con hierro sin investigar la causa del déficit no es una correcta práctica clínica. Se debe sospechar la presencia de pérdidas hemáticas incluso en el caso de una anemia leve.

Se puede aportar hierro como distintas sales (sulfato, gluconato o fumarato) o hierro-sacarosa, vía oral, administrado 30 minutos antes de las comidas, puesto que algunos alimentos y los antiácidos pueden disminuir la absorción. La ingesta conjunta de 500 mg de vitamina C mejora la absorción, sin aumentar las molestias gástricas. Las cápsulas de hierro con protección entérica no deben emplearse por su escasa absorción. El hierro oral tiene menos efectos secundarios que el parenteral, con igual tasa y patrón de respuesta. La máxima respuesta reticulocitaria ocurre habitualmente entre 7 y 10 días del inicio del tratamiento con hierro. La magnitud de esta respuesta es menor que la obtenida con B_{12} o ácido fólico en las anemias megaloblásticas. La visualización de un incremento de la policromatofilia en una extensión sanguínea tiene un índice costo/beneficio más favorable que el recuento reticulocitario. En las dos primeras semanas la hemoglobina aumenta poco, pero posteriormente el aumento debe ser de 0,7-1 g por semana. Una respuesta pobre puede deberse a pérdidas hemorrágicas mantenidas, patología infecciosa o tumoral de base, insuficiente aporte dietético o, en muy raras ocasiones, malabsorción del hierro oral. Conforme la hemoglobina se aproxima a valores normales, el ritmo de incremento se enlentece. La anemia se debe haber corregido en 2 meses, y el tratamiento con hierro deberá continuar al menos 6 meses para replecionar los depósitos.

5.6.2. Hierro parenteral

Existen distintas preparaciones para administración intramuscular o intravenosa de hierro para cuando no se tolere su aporte oral, la necesidad de hierro sea urgente o en situaciones clínicas no solucionables, habitualmente la pérdida gastrointestinal persistente (p. ej., telangiectasia hereditaria hemorrágica). El empleo de hierro parenteral ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años ante la percepción de que el tratamiento con eritropoyetina recombinante provoca un importante incremento de las necesidades de hierro que no puede ser aportado por la liberación fisiológica procedente del sistema retículo-endotelial.

Hay dos pautas de administración:

1. Administrar la dosis total de hierro necesario para corregir el déficit de hemoglobina y que el paciente quede con al menos 500 mg de reservas.

2. La administración de dosis pequeñas repetidas, como habitualmente se hace en los centros de

diálisis: por ejemplo, 100 mg de hierro elemental semanal durante 10 semanas, para incrementar la respuesta eritropoyética al tratamiento con eritropoyetina recombinante. Para un paciente individualmente considerado, se calcula la cantidad de hierro que precisa según la fórmula:

Peso (kg) x 2,3 x [15 - hemoglobina (g/dl)] + 500 o 1.000 mg (para depósitos)

Con el hierro dextrano parenteral han ocurrido reacciones adversas graves en el 0,7% de los casos, que han provocado la investigación de nuevos complejos de hierro, el más reciente el gluconato de hierro intravenoso, habiéndose conseguido una menor incidencia de anafilaxia grave. Su presentación parece correlacionarse con el antecedente de alergias múltiples o reacción alérgica previa al dextrano. Los síntomas generalizados pueden aparecer varios días después de una dosis elevada: artralgias, *rash* cutáneo y febrícula, con severidad relacionada con la dosis. Los pacientes con sensibilidad al dextrano toleran bien el hierro gluconato intravenoso. Las dosis superiores a 100 mg deben diluirse en glucosado 5% o salino fisiológico y administrarse en 60-90 minutos. Aunque es recomendable administrar una dosis previa de prueba de 25 mg, la administración lenta permite la suspensión de la infusión ante la aparición de dolor torácico, sibilancias o un descenso de la tensión arterial.

6. Hierro y estrés oxidativo

El exceso de hierro, incluso en cantidad escasa, se identifica cada vez con mayor frecuencia como un importante cofactor en la morbilidad atribuida a múltiples patologías, incluyendo el cáncer, los procesos cardiovasculares, artritis, hepatopatías crónicas y diversos trastornos caracterizados por la resistencia a la insulina. A continuación, se comentan algunos aspectos de la participación del hierro en la patogenia de distintos procesos, singularmente en enfermedades degenerativas cerebrales asociadas a un incremento del estrés oxidativo.

6.1. Regulación del hierro a nivel cerebral

El hierro regula por mecanismo *feed-back* su propio metabolismo. El hierro intracelular regula la expresión génica de la ferritina, de su receptor y del hemo, controlando el metabolismo férrico en las células cerebrales a nivel postranscripcional, mediante la regulación de la unión de la proteína reguladora de hierro (IRP) a los elementos que unen hierro (IRE) en el mRNA de las proteínas.

Cuando el hierro intracelular está bajo, la escasez de clúster de hierro-sulfuro provoca la unión del IRP a una región no transcrita del mRNA-ferritina suprimiendo la transcripción de ferritina, y en consecuencia disminuyendo el almacenaje de hierro. Además, la aconitasa del ciclo del ácido tricarboxílico puede participar en la regulación del hierro por la producción de citrato e isocitrato, los cuales reaccionan con el ión hierro formando complejos bioactivos de hierro. Sin embargo, en el momento presente la regulación del transportador de metales divalentes (DMT-1) y de la captación cerebral de hierro es desconocida, siendo muy importante conocer el comportamiento redox de los complejos de hierro de bajo peso molecular, también llamado "hierro bioactivo" (hierro-citrato, hierro-ADP, hierro-dopamina, hierro-cisteína) en la regulación genética mediada por hierro.

Hay una regulación regional de la captación de hierro por el cerebro, que debe estar mediada por la barrera hematoencefálica de cada zona. La señal reguladora es desconocida, pero entre las proteínas implicadas se cuentan la transferrina, su receptor y el transportador-1 de metales divalentes (DMT-1), aunque es probable que haya mecanismos de captación independientes de transferrina. Se discute el papel de la transferrina en el movimiento del hierro dentro del SNC y en consecuencia en el establecimiento de la distribución heterogénea (¿bajo control regional?) entre los distintos núcleos cerebrales, lo cual es consistente con la elevada expresión de los receptores de transferrina en la microvasculatura cerebral. El hierro contenido en el LCR podría contribuir a una distribución más uniforme del hierro cerebral, en el caso (discutido) de que su presencia en LCR no sea simplemente una vía de eliminación.

6.1.1. Hierro como cofactor de las enzimas redox

El hierro es un elemento nutritivo esencial como cofactor enzimático en todas las formas de vida. El hierro hemo, además, juega un papel esencial en el transporte mitocondrial de electrones y la respiración, proliferación y diferenciación celular, además de regular la expresión genética y las funciones cerebrales. El hierro que participa en el ciclo redox es liberado por los complejos macromoleculares (ferritina, transferrina, hemoproteínas, etc.), que se encargan de prevenir o minimizar su reacción con especies de oxígeno reducido, porque en teoría funcionan como señalización de las vías de la oxirreducción intracelular normal.

Además de investigar sus propiedades tóxicas, los intermediarios reactivos de oxígeno han sido objeto recientemente de gran interés como señales biológicas y mediadoras de los circuitos de regulación genética en las células eucariotas, habiendo sido identificadas y caracterizadas varias proteínas inducidas por su producción. Estas proteínas no son únicamente reguladas por el estrés oxidativo sino que pueden responder además a otras señales biológicas de estrés celular, a factores de crecimiento y a citokinas.

Las neuronas emplean los complejos bioactivos de hierro para mantener la respiración mitocondrial y la producción de energía por medio del ciclo del ácido tricarboxílico. Las funciones básicas son llevadas a cabo por el hemo y las proteínas que contienen clusters de hierro-sulfuro (aconitasa, citocromos, guanilil ciclasa, succinato deshidrogenasa, óxido nítrico sintetasa, hemoglobina, proteín kinasa C-B, y las enzimas mitocondriales de los complejos I-III).

6.1.2. Hierro y estrés oxidativo cerebral

Los intermediarios reactivos de oxígeno, como el anión superóxido ($O_2^{\cdot}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), se consideran habitualmente como detritus procedentes del metabolismo intracelular, que incluye las reacciones de transferencia de electrones. La situación en que estos detritus están presentes en exceso se conoce como "estrés oxidativo". Los intermediarios reactivos de oxígeno también se producen por parte de células especializadas para atacar células diana exógenas, por ejemplo, los fagocitos producen anión superóxido, ácido hipocloroso, NO y H_2O_2; como mecanismo de defensa antiinfecciosa. Puesto que el estrés oxidativo es citotóxico, las células procariotas y eucariotas activan mecanismos autoprotectores. La catalasa y peroxidasa son hemoproteínas con una vida media de unas 20 horas, que al reaccionar con el peróxido de hidrógeno protegen al organismo de un proceso oxidativo incontrolado (*ver Capítulo 1.19*).

Una vía reguladora entre el estrés oxidativo y el metabolismo de hierro en los mamíferos está mediada por la IRP-1, proteína-1 reguladora del hierro, como regulador citoplasmático postranscripcional del mRNA que contiene elementos respondedores al hierro (IRE). Es una proteína bifuncional con dos actividades exclusivas y que se excluyen mutuamente: como holo-proteína que contiene clúster 4Fe-4S, es una aconitasa citoplasmática; mientras que es capaz además de unirse con gran afinidad a los IREs como una apoproteína vacía de clúster. La activación de la unión IRE por la IRP-1 se asocia a un cambio postranscripcional desde 4Fe-4S hasta una apo-IRP-1. El déficit intracelular de hierro y el óxido nítrico (NO) inducen una activación lenta (8-12 h) del IRP-1, mientras que el H_2O_2 extracelular la induce rápidamente (30-60 min). El estrés oxidativo inducido farmacológicamente también activa la IRP-1, que resulta ser, por tanto, una proteína reguladora que responde al estrés oxidativo intra y extracelular, aunque por mecanismo aún desconocido. El H_2O_2 parece no dirigir un ataque químico directo sobre los clusters 4Fe-4S del IRP-1, sino que, aunque el H_2O_2 sea fácilmente difusible, la señal de su incremento extracelular debe ser transmitida al interior de la célula. Con los conocimientos actuales, es evidente que diferentes condiciones clínicas provocan un incremento del H_2O_2 extra (neutrófilos y fagocitos activados) o intracelular (enfermedades mitocondriales). La IRP-1 es la primera proteína reguladora conocida que se activa por distintos mecanismos ante el incremento extra o intracelular del estrés oxidativo y, en consecuencia, establece conexiones reguladoras previamente desconocidas entre el metabolismo del hierro y el estrés oxidativo. Otra proteína reguladora del hierro (IRP-2) es también un polipéptido citoplasmático perteneciente a la

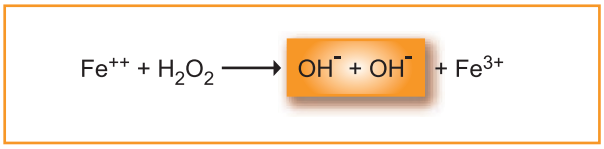


Figura 5. *Reacción de Fenton. Generación del radical hidroxil catalizada por metales de transición como el ión hierro (Fe^{++}) en presencia de peróxido de hidrógeno y reductores como el ácido ascórbico.*

familia de las isomerasas con clusters de hierro-sulfuro y muy similar a la IRP-1, pero de diferente regulación metabólica tras producirse una alteración del metabolismo del hierro o por otras señales. Tanto la IRP-1 como la IRP-2 se activan por óxido nítrico.

Mediante la reacción de Fenton **(Figura 5)** el hierro liberado por los complejos macromoleculares que normalmente lo secuestran es capaz de producir los potentes radicales hidroxilo, responsables de la oxidación de lípidos, proteínas y, en consecuencia, vinculados al daño tisular y a enfermedades degenerativas; sin olvidar (como queda reflejado anteriormente en este mismo Capítulo) que el estrés oxidativo ocurre también en condiciones fisiológicas como la regulación de las vías de transducción de señales.

A la liberación de hierro por mecanismo oxidativo se le ha prestado menor atención. En distintas patologías, en la hemólisis por drogas, envejecimiento eritrocitario, y también en situaciones más sutiles como los estados de isquemia-reperfusión (p. ej., por la hipoxia del parto, y trastornos hemodinámicos especialmente en recién nacidos de muy bajo peso), la hemoglobina o sus derivados liberan hierro en forma libre, quelable mediante desferrioxamina, que juega un papel crucial en la oxidación de las membranas y en la formación del antígeno celular senescente (SCA), mecanismo primordial de retirada de los eritrocitos de la circulación. La reactividad oxidativa del hierro explica la propagación del "fuego oxidativo" a las células próximas y, por ejemplo, la amplificación del daño hemorrágico habitualmente observada en patología humana.

El hierro libre participa en la oxidación de las proteínas de la membrana plasmática y en la formación del antígeno celular senescente, situaciones ambas que pueden prevenirse mediante el empleo de quelantes de hierro que penetran en las células. Los eritrocitos envejecidos son retirados de la circulación por los fagocitos mononucleares, que son capaces de identificarlos por llevar en su superficie un neoantígeno (SCA) unido a anticuerpos tipo IgG autólogos que, a su vez, se unen a los macrófagos. Los neonatos, y sobre todo los prematuros, tienen un ritmo acelerado de eliminación de eritrocitos, quizá por mayor formación de antígeno SCA, que pudiera ser un mecanismo de la hiperbilirrubinemia neonatal y de la observada en las anemias hemolíticas.

Tabla 14. CUADROS CLÍNICOS INCLUIDOS EN LA ENFERMEDAD POR RADICALES LIBRES DE LA PREMATURIDAD

Broncodisplasia pulmonar
Fibroplasia retrolental
Enterocolitis necrotizante
Hemorragia intraventricular

La hemoglobina fetal parece liberar hierro más fácilmente que la adulta, habiéndose detectado en neonatos una mayor concentración plasmática de hierro libre, que se correlaciona con la cantidad de hierro no unido a proteínas. Si los eritrocitos tienen una menor capacidad de defensa antioxidante, representada, por ejemplo, por una baja concentración de glutatión (GSH), la liberación de hierro va acompañada de peroxidación lipídica y hemólisis.

La mayor facilidad para liberar hierro por los eritrocitos en el neonato que en el adulto puede explicar, al menos parcialmente, la aparición de hierro libre en plasma, que juega un importante papel en la llamada "enfermedad por radicales libres del prematuro" **(Tabla 14)**.

La toxicidad debida al hierro libre no es patrimonio del neonato y puede ocurrir incluso en personas no predispuestas genéticamente al déficit de hierro, por la ingestión de más de 75 mg de hierro suplementario al día.

Asimismo, existe un número creciente de observaciones acerca del daño oxidativo por liberación de hierro inducida por el ejercicio.

La alteración del metabolismo del hierro cerebral está asociada con distintas enfermedades,

como el síndrome de Hallervorden-Spatz, caracterizado por una sobrecarga de hierro en zonas cerebrales concretas, como el *globus pallidus*; la aceruloplasminemia, con sobrecarga de hierro en los ganglios basales; y la ataxia de Friedreich, asociada al acúmulo de hierro en las mitocondrias miocárdicas y neuronales. Aunque en todos estos trastornos el hierro juega un papel crucial en su fisiopatología, apenas hay datos acerca de la homeostasis cerebral del hierro para comprender sus bases moleculares. Para ello, se han de caracterizar los mecanismos fundamentales de captación, transporte y eliminación de hierro por parte del sistema nervioso central.

En la sustancia negra y en los ganglios basales, el hierro férrico y el DMT-1 se encuentran principalmente en oligodendrocitos y microglia. Las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra se tiñen ligeramente con transferrina y DMT-1, lo cual pudiera contribuir al incremento edad-dependiente del daño oxidativo relacionado con el hierro en el sistema nigroestriatal. Para mantener la homeostasis, el exceso de hierro se almacena en la ferritina como forma estable del hierro no hemo, habiéndose encontrado elevadas concentraciones de ferritina en los ganglios basales y sustancia negra de los enfermos con Parkinson. Se ha propuesto que la ferritina pudiera formar parte de las proteínas antiestrés oxidativo celular, dado el elevado contenido de hierro no hemo y de dopamina encontrados en el cerebro medio, para aumentar la resistencia celular a los oxidantes. La inducción del gen de ferritina puede regular la concentración celular de pequeños complejos de hierro bioactivo, como el citrato ferroso (cofactor esencial de la tirosina hidroxilasa, la enzima limitante de la síntesis neuronal de dopamina). El hierro aumenta la síntesis cerebral de dopamina y otras monoaminas, y quizá incrementa el *turnover* de estos neurotransmisores. Las neuronas sufren tanto la ferropenia como la sobrecarga de hierro. Por un mecanismo similar, aunque no idéntico, al infarto hemorrágico, la sobrecarga de hierro puede poner en marcha la neurodegeneración cerebral progresiva propia del síndrome de Hallervorden-Spatz, aunque no se conoce por completo la localización específica de la sobrecarga en los ganglios basales.

7. Resumen

- El hierro es un oligoelemento esencial necesario para una amplia variedad de funciones biológicas, desde el transporte de oxígeno y la oxidación mitocondrial hasta la síntesis de neurotransmisores y del DNA. Múltiples proteínas del organismo precisan de una captación de hierro suficiente y apropiada para cubrir las necesidades celulares y del organismo. Desde la perspectiva nutricional, como oligoelemento esencial implicado en el transporte de oxígeno, su carencia en la dieta se traduce en la presencia de anemia. Estimaciones recientes acerca de la prevalencia de ferropenia y de anemia sitúan en un 46% el porcentaje de niños entre 5 y 14 años que padecen anemia, la gran mayoría de los cuales viven en países en vías de desarrollo; y que la ferropenia sigue siendo el déficit nutricional más frecuente en países desarrollados. En consecuencia, la anemia y la ferropenia son un problema de salud de primerísima magnitud que es preciso detectar, prevenir y corregir.

- La anemia es una concentración baja de hemoglobina. Si la causa es un déficit de hierro, el individuo tendrá unas bajas reservas de hierro, ferritina plasmática baja o descenso de hierro teñible en médula ósea, baja saturación de transferrina, con aumento de protoporfirina eritrocitaria libre y de la concentración del receptor sérico de transferrina.

- El balance de hierro es la diferencia entre la tasa de retención del hierro ingerido y los requerimientos. La absorción es producto de la ingesta y la biodisponibilidad del hierro dietético, suplementario o contaminante. Ambas variables están muy influenciadas por factores socioculturales. Las células epiteliales de la mucosa duodenal regulan el transporte desde el intestino hasta la circulación, donde va ligado a proteínas puesto que en estado libre es tóxico. Se distribuye en tres compartimentos: funcional (p. ej., hemoglobina); circulante (transferrina) y de depósito (ferritina y hemosiderina). En condiciones normales, no se detecta hierro libre en suero por la abundancia de transferrina, porque está secuestrado (el intracelular en la ferritina) para que carezca de reactividad química. Los tejidos periféricos internalizan la transferrina circulante por unión con su receptor específico (RTf) en la superficie celular. El contenido intracelular de hierro regula la síntesis del receptor de la transferrina y de ferritina, con la participación de distintas proteínas. La absorción se hierro es regulada por mecanismos directos e indirectos: reguladores dietético, de reservas, eritropoyético y en respuesta a la hipoxia.

- El hierro hemo es más biodisponible (más fácilmente absorbible) que el inorgánico no hemo y no se ve influenciado por los componentes de la dieta. La distribución del hierro en sus diferentes compartimentos se modifica desde el nacimiento hasta la adolescencia, y los periodos vitales con mayor probabilidad de déficit son la lactancia y la adolescencia. Las manifestaciones clínicas dependen de la magnitud de la ferropenia, y son, en buena medida, secundarias a la anemia, pero también por efecto directo de la falta de hierro sobre el sistema nervioso central en desarrollo. En el diagnóstico de la deficiencia de hierro hay que realizar una encuesta nutricional, anamnesis detallada y examen físico, y confirmación mediante pruebas complementarias. El exceso de hierro, incluso en cantidad escasa, se identifica cada vez con mayor frecuencia como un importante cofactor en la morbilidad atribuida a múltiples patologías, por la producción de radicales libres.

8. Bibliografía

Allen LH. Anemia and iron deficiency: effects on pregnancy outcome. Am J Clin Nutr 2000; 71 (5 Suppl): 1280S-4S.
Esta revisión recoge el conocimiento actual acerca de los beneficios del aporte suplementario de hierro en la mujer embarazada, tanto para ella misma como para su futuro hijo. La anemia ferropénica es un factor de riesgo para el parto prematuro con un consiguiente bajo peso al nacer, y posiblemente con un peor estado de salud posterior. Incluso en mujeres con aceptables reservas de hierro, la suplementación las mejora durante el embarazo y posparto, protegiéndolas contra su déficit, e incluso protegiendo a su hijo contra la ferropenia durante el primer año de vida, aunque este punto precisa de una más profunda investigación.

Beard JL. Iron requirements in adolescent females. J Nutr 2000; 130 (2S Suppl): 440S-2S.
El gran incremento de los requerimientos de hierro durante la adolescencia como resultado de la expansión del volumen sanguíneo total, el incremento de la masa magra y, en mujeres, el inicio de la menstruación, hace muy improbable que en este periodo se puedan adquirir unas reservas adecuadas, lo que haría proclives a las adolescentes a desarrollar una anemia ferropénica durante el embarazo, al no ser suficiente la ingesta dietética según los datos conocidos acerca de la biodisponibilidad del hierro en la dieta prototipo tanto en los países en vías de desarrollo como en los industrializados.

Beard J, Tobin B. Iron status and exercise. Am J Clin Nutr 2000; 72 (2 Suppl): 594S-7S.
La prevalencia de la anemia ferropénica es mayor en los atletas (sobre todo mujeres) que en la población sedentaria. La anemia ferropénica disminuye tanto el rendimiento como la función inmune y otras funciones fisiológicas. La causa es tanto el tipo de dieta como el mayor recambio del hierro eritrocitario y del hierro corporal total. En cambio, no parece existir una menor absorción intestinal, ni mayores pérdidas urinarias o por sudoración.

Carracedo Morales A. Contribución del receptor sérico de la transferrina en la valoración del estado del hierro en pediatría. Tesis doctoral. Universidad de Granada, 2003.
Tesis doctoral realizada en nuestro medio, y dirigida por el responsable de nuestro grupo de trabajo, acerca de la utilidad clínica del receptor sérico de transferrina en el diagnóstico de los estados carenciales de hierro en la infancia.

Chiueh CC. Iron overload, oxidative stress, and axonal dystrophy in brain disorders. Pediatr Neurol 2001; 25 (2): 138-47.
Trabajo que, tomando como modelo el síndrome de Hallervorden-Spatz (trastorno cerebral con patrón de herencia autosómico-recesivo que asocia una disfunción extrapiramidal y deterioro mental, debido al acúmulo de hierro en el globo pálido y la sustancia negra, revisa cómo el ciclo redox de los complejos de hierro (p. ej., citrato ferroso y hemoglobina) aumentados conlleva un incremento del estrés oxidativo (hiperproducción de radicales libres, peroxidación lipídica, distrofia axonal y muerte celular por apoptosis), con resultado de sobreproducción de dopamina y disfunción psicomotriz. Sugiere, además, que una terapia antioxidante combinada y la inducción genética pudieran ser útiles en el enlentecimiento de la neurodegeneración progresiva provocada por la sobrecarga cerebral de hierro.

Comporti M, Signorini C, Buonocore G, Ciccoli L. Iron release, oxidative stress and erythrocyte ageing. Free Radic Biol Med 2002; 32 (7): 568-76.
El hierro es liberado por la hemoglobina o sus derivados en forma libre (no unido a proteínas y, por tanto, quelable con desferroxiamina) en los trastornos en que los eritrocitos se ven sometidos a estrés oxidativo (tóxico, estados de isquemia-reperfusión, o incluso en situaciones fisiológicas como el envejecimiento eritrocitario). El hierro liberado puede oxidar las proteínas de membrana y contribuir a la formación del antígeno celular senescente (SCA), uno de los mecanismos primordiales de retirada de los eritrocitos de la circulación. La hemoglobina fetal libera hierro con mayor facilidad que la del adulto, contribuyendo de modo significativo a la concentración plasmática de hierro no unido a proteínas.

Connor JR, Menzies SL, Burdo JR, Boyer PJ. Iron and iron management proteins in neurobiology. Pediatr Neurol 2001; 25 (2): 118-29.
Este artículo pone al día el novedoso concepto acerca de la regulación regional de la captación cerebral de hierro. Los procesos dependientes de la captación cerebral de hierro son específicos para una determinada región cerebral (p. ej., síntesis de dopamina) y, además, dependientes de la edad (p. ej., la mielinización). Revisa el patrón de desarrollo del acúmulo de hierro y la expresión de las proteínas encargadas de mantener la homeostasis del hierro en cada región cerebral específica, y también de manera individualizada para cada tipo celular. La comprensión de tales mecanismos es esencial para abrir nuevas perspectivas en los trastornos por exceso de acumulación de hierro, así como para buscar la forma de reponer el hierro cerebral en los estados de ferropenia.

Fomon SJ, Ziegler EE, Serfass RE, Nelson SE, Rogers RR, Frantz JA. Less than 80% of absorbed iron is promptly incorporated into erythrocytes of infants. J Nutr 2000; 130 (1): 45-52.
Mediante la incorporación de un isótopo estable de hierro a los eritrocitos se determina que la excreción fecal del hierro ingerido ocurre primordialmente en los 4 primeros días, representando la excreción por heces a partir del 7.º día la eliminación del hierro no absorbido junto a la descamación intestinal de los enterocitos cargados de hierro. La utilización del hierro retenido es inferior al 20% en lactantes pequeños, y superior al 38% en lactantes mayorcitos. Se concluye que, a diferencia de lo que ocurre en adultos y niños mayores, bastante menos del 80% del isótopo retenido se incorpora a los eritrocitos.

Gera T, Sachdev HP. Effect of iron supplementation on incidence of infectious illness in children: systematic review. BMJ 2002; 325 (7373): 1142.
Mediante la revisión sistemática de los ensayos clínicos controlados y aleatorizados (publicados o no) acerca del efecto de la suplementación con hierro (oral mediante suplementación de

la fórmula o de los cereales, o parenteral), sobre la incidencia de infecciones en niños, se llega a la conclusión de que esta práctica no tiene aparentemente efectos dañinos sobre la incidencia global de las enfermedades infecciosas en niños, aunque incrementa de forma ligera el riesgo de presentar diarrea.

Gordon N. Iron deficiency and the intellect. Brain Dev 2003; 25 (1): 3-8.
La pregunta acerca de si la ferropenia trastorna el desarrollo físico y mental, y si este daño puede ser permanente, es difícil de responder debido a los múltiples factores que pueden dar lugar a confusión, desde la presencia de otros déficit nutricionales hasta la parasitación por helmintos y la malaria en países tropicales. Si hubiese una relación bien definida, los menores de 2 años tendrían un riesgo especial, debido a la ocurrencia en dicho periodo del mayor crecimiento cerebral. Los niños anémicos, por sentirse enfermos, pueden cooperar en menor medida en la realización de los tests necesarios para documentar el deterioro del desarrollo. En base a los trabajos publicados es difícil de extraer una conclusión, debido además a la gran variabilidad de los diseños. No obstante, en base a las evidencias disponibles se puede justificar el tratamiento del déficit de hierro, con o sin anemia, remarcando además la importancia de su prevención.

Kapil U, Bhavna A. Adverse effects of poor micronutrient status during childhood and adolescence. Nutr Rev 2002; 60 (5 Pt 2): S84-S90.
Como constatación de la aún muy elevada incidencia de la ferropenia en países en vías de desarrollo, se incluye la revisión realizada por investigadores de India, indicando que, a pesar de los importantes avances en el grado de bienestar en ese país, aún se detecta un 5-7% de déficit de vitamina A en algunas áreas, un 53% de anemia ferropénica y un 9% de bocio; tres de los más importantes micronutrientes por ser vitales para un normal desarrollo de las funciones cognitivas, de la inmunidad y de la capacidad reproductiva.

Kurz KM, Galloway R. Improving adolescent iron status before childbearing. J Nutr 2000; 130 (2S Suppl): 437S-9S.
Aunque los sistemas públicos de salud recogen la necesidad de los aportes suplementarios de hierro como parte de los cuidados prenatales, la anemia ferropénica alcanza una elevada prevalencia y se antoja como un problema inabordable, sobre todo en las mujeres que viven en países en vías de desarrollo. En los trabajos expuestos en el simposio "Improving Adolescent Iron Status before Childbearing" (recogidos en un suplemento de esta revista) se pretende explorar las posibilidades de tratar y prevenir la anemia entre las chicas adolescentes antes de que procreen, aun teniendo presente la elevada incidencia del déficit de otros micronutrientes en este grupo de edad.

Oppenheimer SJ. Iron and its relation to immunity and infectious disease. J Nutr 2001; 131 (2S-2): 616S-33S.
El déficit de hierro se asocia a anormalidades reversibles de la función inmune, que son difíciles de definir en base a estudios observacionales. El aporte suplementario de hierro se ha relacionado con la exacerbación de infecciones, en particular de la malaria, hasta el punto de no observarse beneficio alguno de la suplementación en regiones endémicas. A la hora de planear estrategias de intervención, se deben tener en cuenta, entre otras, la prevalencia relativa local de las distintas causas de anemia, la endemicidad estacional de la malaria y la inmunidad específica relacionada con la edad. No hay evidencia de efectos deletéreos del aporte de hierro en áreas no endémicas de malaria. No se ha confirmado que la fortificación con hierro de la leche reduzca la morbilidad debida a enfermedades respiratorias, hecho que sí ocurre por la alimentación exclusiva al pecho.

Rouault TA. Systemic iron metabolism: a review and implications for brain iron metabolism. Pediatr Neurol 2001; 25 (2): 130-7.
Cuando las células presentes en la circulación sistémica tienen un escaso contenido en hierro, incrementan la síntesis del receptor de transferrina y disminuyen la síntesis de la proteína de secuestro del hierro en exceso, la ferritina. Además, aumenta la expresión de los transportadores y de la captación duodenal de hierro. Las proteínas primordiales en el metabolismo del hierro a nivel sistémico también se expresan en el sistema nervioso central, aumque sus mecanismos locales de transporte y distribución no sean bien conocidos.

Tapiero H, Gate L, Tew KD. Iron: deficiencies and requirements. Biomed Pharmacother 2001; 55 (6): 324-32.
Se revisan los últimos datos acerca de los mecanismos reguladores del hierro, así como su procedencia y requerimientos. El descubrimiento de las proteínas reguladoras del hierro citoplasmático (IRP) ha aportado un campo de trabajo molecular para comprender los procesos de homeostasis del hierro celular en los mamíferos. Junto con los elementos respondedores al hierro (IRE), a los que los IRP se unen, permiten a los mamíferos aprovechar las propiedades esenciales del hierro, reduciendo simultáneamente su potencialidad tóxica. Respecto de los requerimientos se han establecido como tres veces mayores en el embarazo que en la mujer fértil, proponiéndose la administración semanal de hierro en vez del aporte suplementario diario como un mecanismo para eliminar la ferropenia.

Yager JY, Hartfield DS. Neurologic manifestations of iron deficiency in childhood. Pediatr Neurol 2002; 27 (2): 85-92.
Aunque la manifestación más común de la ferropenia es la anemia, en esta condición también se detecta una mayor incidencia de retraso psicomotor, espasmos afectivos, pseudotumor cerebral y parálisis de pares craneales. Se revisan los mecanismos fisiopatológicos que ligan la ferropenia a estos trastornos neuropediátricos comunes.

9. Enlaces web

- www.mcphu.edu/netbiochem/hi.htm
- www.mcphu.edu/netbiochem/hi.htm
- www.chemistry.wustl.edu/~edudev/Ferritin/MoleculeOfTheMonth/ferritintutorial_molmonth.html
- www.harrisons.accessmedicine.com (bajo suscripción)
- www.cdc.gov/nceh/dls/nhanes.htm
- www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00051880.htm#00003033.htm
- www.medlib.med.utah.edu/WebPath/TUTORIAL/IRON/IRON.html
- sickle.bwh.harvard.edu/menu_iron.html
- www.merck.com/mrkshared/mmanual/section1/chapter4/4b.jsp
- www.ghsoc.org/home.html
- www.thalassaemia.org.cy

1.29. Cobre y zinc en nutrición humana

Manuel Olivares Grohnert ■ Carlos Castillo Durán ■ Miguel Arredondo Olguín ■ Ricardo Uauy Dagach-Imbarack

Capítulo 1.29.

Cobre y zinc en nutrición humana

1. Introducción

2. El cobre en la nutrición humana

2.1. Bases bioquímicas de la esencialidad (requerimientos)

2.2. Regulación celular y corporal de la homeostasis del cobre

2.3. Efectos bioquímicos funcionales del déficit de cobre (indicadores)

2.4. Efectos bioquímicos funcionales del exceso de cobre (indicadores)

2.5. Déficit de cobre de causas nutricionales y genéticas

2.6. Exceso del cobre de causas nutricionales y genéticas

2.7. Cómo cumplir con las recomendaciones dietéticas bajo condiciones de salud y enfermedad

3. El zinc en la nutrición humana

3.1. Bases bioquímicas de la esencialidad (requerimientos)

3.2. Regulación celular y corporal de la homeostasis del zinc

3.3. Funciones dependientes de la nutrición del zinc

3.4. Efectos bioquímicos funcionales del déficit de zinc (indicadores)

3.5. Efectos bioquímicos funcionales del exceso de zinc (indicadores)

3.6. Déficit de zinc de causas nutricionales y genéticas

3.7. Exceso de zinc de causas nutricionales y genéticas

3.8. Cómo cumplir con las recomendaciones dietéticas bajo condiciones de salud y enfermedad

4. Resumen

5. Bibliografía

6. Enlaces web

Objetivos

- Conocer las bases bioquímicas y moleculares de la esencialidad del cobre y del zinc.
- Conocer cómo se regula la homeostasis de cobre y zinc a nivel de células, órganos y cuerpo completo. Compartimentos funcionales y cinética del balance de cobre y zinc.
- Identificar las funciones afectadas por el déficit y exceso de cobre y el zinc en el cuerpo, y conocer el papel de estos minerales en dichas funciones.
- Comprender cómo funciona el transporte, almacenamiento y excreción de cobre y zinc.
- Reconocer los efectos del déficit de cobre y zinc sobre la salud humana y cómo evaluarlos.
- Reconocer los efectos del exceso de cobre y zinc sobre la salud humana y cómo evaluarlos.
- Analizar los factores dietéticos, nutricionales y genéticos que determinan riesgo de déficit y exceso a nivel individual y poblacional.
- Definir cómo cumplir con las recomendaciones de ingesta dietética de cobre y zinc en diversas condiciones fisiológicas y patologías que comúnmente afectan a la nutrición de cobre y zinc.

1. Introducción

El cobre y zinc son elementos traza esenciales para el ser humano. Ambos elementos son indispensables para la actividad de numerosas enzimas y funciones corporales. Ambos elementos cumplen la función de regular la expresión de múltiples genes. El zinc, además, participa en la manutención de la integridad estructural de las proteínas.

El contenido total de zinc en un adulto (70 kg) es de alrededor de 2 g, y el de cobre es de 110 mg. Estos oligoelementos siguen en importancia al hierro, en cuanto al contenido corporal. Ambos minerales se encuentran en todos los tejidos y fluidos corporales. La mayor proporción del zinc corporal se encuentra en los músculos (60%) y huesos (30%). El cerebro y el hígado, a pesar de que representan sólo un 5% del peso corporal, suponen un 25% del contenido total corporal de cobre. Los músculos, a pesar de tener una concentración de cobre más baja, representan un 40% del contenido de cobre corporal. Ambos metales pertenecen a la serie de los elementos de transición, que incluye también el cromo, hierro, cobalto, manganeso, níquel y zinc.

El nombre de zinc deriva del vocablo germano *zink*. Su número atómico es 30, y su peso atómico, 65,37. Los isótopos estables del zinc son el ^{64}Zn (abundancia: 48,63%), ^{66}Zn (27,9%), ^{67}Zn (4,1%), ^{68}Zn (18,75%) y ^{70}Zn (0,62%). Adicionalmente existen varios radioisótopos que en su mayoría presenta una corta vida media. Este mineral presenta dos estados de oxidación: Zn^0 (metálico) y Zn^{+2}. El Zn^{+2} es un fuerte aceptor de electrones y, por tanto, es capaz de unirse fuertemente a compuestos donantes de electrones. Por otra parte, este elemento no presenta propiedades redox, por lo que, a diferencia del Cu, no es capaz de generar radicales libres. Las particularidades químicas únicas del zinc le confieren un importante papel estructural.

El cobre deriva su nombre del vocablo latino *cuprum*, derivado de *Cyprum*, nombre latino de la isla de Chipre. Su número atómico es 29, y su peso atómico, 63.546. Posee dos isótopos estables, ^{63}Cu y ^{65}Cu, con una abundancia relativa de 69,2 y 30,8%. Además, se encuentran varios radioisótopos de cobre, todos los cuales presentan una vida media muy breve. Este elemento presenta tres estados de oxidación: Cu^0 (cobre metálico), Cu^{+1} y Cu^{+2}. De forma excepcional, este elemento se puede encontrar como Cu^{+3}. En los sistemas biológicos, el cobre se encuentra predominantemente como Cu^{+2}. El ión cuproso (Cu^{+1}) es inestable (tiene electrones desapareados), siendo fácilmente oxidado a ión cúprico (Cu^{+2}). Los cambios en el estado de oxidación pueden alterar los sistemas biológicos, afectando a diversas moléculas a traves de la oxidación (p. ej., peroxidación de lípidos, daño del DNA por oxidación de las bases nitrogenadas). Por otra parte, la transición entre estos estados de oxidación permite que este elemento participe en una diversidad de actividades catalíticas propias de la transferencia de electrones.

2. El cobre en la nutrición humana

2.1. Bases bioquímicas de la esencialidad (requerimientos)

El cobre es esencial para la vida de plantas y animales. Diversos estudios realizados en animales y humanos han mostrado que el cobre está involucrado en la función de numerosas enzimas. La potencial esencialidad de este elemento fue reconocida tan sólo en 1928, cuando se demostró que este metal era esencial para la eritropoyesis en ratas alimentadas exclusivamente con una dieta basada en leche. La anemia se corrigió cuando se agregaron cenizas de origen animal o vegetal que contenían cobre, a la dieta. Hallazgos similares en humanos establecieron las bases para la esencialidad del metal. Estudios realizados en los años 60 del siglo pasado en niños desnutridos del Perú y en los años 70 en Chile, demostraron la existencia de anemia refractaria a la terapia con hierro, neutropenia y anormalidades en la médula ósea, que se recuperaba después de una suplementación con cobre.

En su conjunto estos estudios realizados en humanos han establecido que el cobre es requerido para el crecimiento, los mecanismos de defensa, mineralización ósea, maduración de glóbulos rojos y blancos, transporte de hierro, metabolismo del colesterol, contractilidad del miocardio, metabolismo de la glucosa y desarrollo cerebral.

Organismos tan diversos como levaduras y mamíferos comparten los mecanismos necesarios en la regulación del metabolismo de cobre, evitando el exceso y déficit dentro de un rango bastante amplio de ingesta. Esto asegura, así, una correcta función de las enzimas y proteínas que unen cobre. Estudios bioquímicos y moleculares han revelado información de los componentes que participan en la homeostasis celular de cobre iónico, contribuyendo, así, a una mejor comprensión de los mecanismos moleculares involucrados en esta regulación. Los requerimientos de cobre en la actividad enzimática, tanto como cofactor como componente alostérico de algunas cuproenzimas, indican que este metal es importante para la función y estructura catalítica de las cuproenzimas y en la regulación de la expresión génica de genes blancos.

Los estudios de las bases bioquímicas de la esencialidad del cobre han mostrado que un importante número de proteínas muestra una actividad óxido-reductasa que depende de la presencia de cobre **(Tabla 1)**. El papel del cobre en estas enzimas deriva de su capacidad para actuar como un intermediario en la transferencia de electrones. El cobre es un cofactor esencial para la actividad catalítica de la lisil oxidasa, tirosinasa, Cu/Zn superóxido dismutasa (SOD1), citocromo *c* oxidasa (COX) y ceruloplasmina (Cp) **(Tablas 1 y 2)**. COX es un complejo proteico de la membrana interna de la mitocondria que cataliza la reducción del oxígeno molecular a agua, utilizando la energía libre de esta reacción para generar un gradiente de protones de transmembrana durante la respiración. La Cp es una multicobre oxidasa que contiene más del 90-95% del cobre presente en el plasma de las especies vertebradas. La estructura cristalina de la Cp muestra la existencia de seis átomos de cobre unidos con alta afinidad a la Cp. La SOD1, se localiza en el citoplasma y cataliza la dismutación de los aniones superóxidos.

Tabla 1. FUNCIÓN DE CUPROENZIMAS CON ACTIVIDAD ÓXIDO-REDUCTASA EN HUMANOS

Citocromo *c* oxidasa	Transporte de electrones
Superóxido dismutasa	Dismutación superóxido
Tirosinasa	Síntesis de melanina
Lisil oxidasa	Entrecruzamiento colágeno y elastina
Amino oxidasa	Desaminación de aminas primarias
Dopamina-β-monooxigenasa	Dopamina → noradrenalina
Fenilalanina hidroxilasa	Fenilalanina → tirosina
α-amidación	α-amidación de neuropéptidos
Glicoproteína de matriz de cartílago	?

Tabla 2. FUNCIÓN DE PROTEÍNAS QUE UNEN COBRE EN HUMANOS

Papel fisiológico	Proteínas que unen cobre
Eliminador de radicales libres	Superóxido dismutasa Metalotioneína Ceruloplasmina
Transporte de metales	Metalotioneína Ceruloplasmina Transcupreína Albúmina Glicoproteína de matriz de cartílago
Actividad ferroxidasa	Ceruloplasmina Ferroxidasa II
Síntesis de adenosina/homocisteína	S-adenosilhomocisteína
Coagulación sanguínea	Factores de coagulación V y VIII

La importancia de la relación entre cobre y las características catalíticas de las enzimas redox se ejemplifica en los estudios de la esclerosis amilotrópica lateral familiar (EALF), donde un 20-25% de los casos presenta mutaciones genéticas en la SOD1. Esto ha generado un alto interés en su estudio y en el papel del cobre en su actividad. El pensamiento inicial fue que la muerte neuronal se asociaba con una disminución en la dismutación de radicales libres por las enzimas anormales. Experimentos posteriores en levaduras que expresaban una mutante nula de SOD1 y en ratones transgénicos sugirieron que el efecto tóxico de la mutación en SOD1 en humanos que presentan la EALF se relaciona con un defecto en otra función de la enzima y no con una baja actividad de la SOD1. Se descubrió que la SOD1 cataliza la oxidación de sustratos a peróxido de hidrógeno. Lo que sirvió para orientar los experimentos posteriores, en los que, usando la formación y detección de aductos de hidroxilos por resonancia electrón paramagnética como un índice de la actividad peroxidásica de SOD1, se encontró que la formación de aductos fue mayor en los genes mutantes de SOD1 de los pacientes de EALF expresados en levaduras. Si se eliminaba el cobre, ya fuera de la enzima normal o de la mutante, se suprimía la peroxidación, actividad que se recuperó gradualmente al aumentar el Cu^{+2}. La adición de agentes quelantes del cobre aumenta levemente la actividad peroxidativa de la enzima normal, mientras que disminuye marcadamente la actividad en las mutantes. En este experimento, no se pudo discriminar si el quelante remueve el cobre desde el sitio activo de la enzima mutante o si ella se une al cobre, inhibiendo la reacción. Para clarificar el significado de este hallazgo en la prevención de la apoptosis neuronal típica de la EALF, se evaluó el efecto de la transfección de genes normales y mutantes de SOD1 sobre la viabilidad en líneas celulares de sustancia nigra sensibles a temperatura. Se encontró que los quelantes de cobre aumentaron significativamente la viabilidad de las células neuronales transfectadas con la SOD1 mutante de un 30 a un 70%; sin embargo, no se modificó la actividad en las células normales. Estos estudios sugirieron finalmente que el cobre es fundamental para la actividad SOD1 y que su alteración en la función se relaciona directamente con las manifestaciones en la EALF.

En otros casos, el cobre actuaría como un componente alostérico de las enzimas **(Tabla 1)**, probablemente confiriendo a la proteína una estructura apropiada para su actividad catalítica. Así, por ejemplo, se sabe que el cobre unido a la proteína es requerido para la actividad de la cobre amino oxidasas tanto en levaduras como en mamíferos. Estas enzimas catalizan la oxidación de aminas primarias biogénicas a su correspondiente aldehído amonio y peróxido de hidrógeno, y son representativas de una nueva clase de enzimas redox en los organismos eucarióticos que contienen un cofactor topa-kinona unido al péptido. Estudios *in vitro* de la histamina oxidasa indican que el precursor inactivo Cu/topa-kinona puede ser activado por incubación con iones cúpricos. Así, la enzima reconstituida contiene el cofactor topa-kinona. Estos hallazgos

Tabla 3. FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN DEPENDIENTES DE COBRE

Factores de transcripción	Genes blancos	Función
Mac 1*	MT	Almacenaje celular y tampón
	CTT1	Catalasa citosólica
	FRE1	Reductasa Cu/Fe de la membrana
Amt1*	MTI, IIα y IIβ	Almacenaje celular y tampón
	SOD1	Dismutación de superóxido
Ace1*	MT	Almacenaje celular y tampón
	SOD1	Dismutación de superóxido
Cup9	?	Distribución Cu celular

** Cobre como factor alostérico de factores de transcripción. El Cu es requerido en forma absoluta para unirse al DNA.*

corroboran que un aspecto importante de la biogénesis de estas enzimas es un mecanismo autocatalítico, que involucra cobre unido a la proteína, y que éste es necesario para una amino oxidasa funcional. Se comprobó, además, que existe una transferencia intramolecular de electrones entre el sitio activo-Cu y la topa-kinona.

El cobre es un componente esencial en la expresión génica. Claramente, en los organismos eucarióticos, los metales representan una clase importante de molécula efectora, la cual regula la expresión génica, ya sea por activación o por represión de la transcripción génica. Los estudios de la transcripción regulada por el cobre en levaduras han proporcionado los principales avances en la identificación de los componentes y los mecanismos de acción de los factores transcripcionales que responden al cobre.

El papel del cobre en la función de las proteínas que unen cobre ha sido demostrado para Ace1, Mac1 y Amt1, las cuales son un conjunto de proteínas que actúan a nivel fisiológico, como componentes genéticos que responden a los cambios de metal **(Tabla 3)**. Estos factores de transcripción actúan como sensores de los niveles intracelulares de cobre, o muestran un papel regulador en estos procesos. El mecanismo de regulación transcripcional de Ace1 y Amt1 involucra la unión inducida por cobre del factor a una secuencia de activación específica río arriba en el 50' del promotor de la metalotioneína (MT). El aumento específico de la actividad de unión a DNA de Ace1 se realiza a través de la formación cooperativa de un núcleo Cu(I)-cisteinil-tiol, el cual provee la energía libre de activación para la estructura terciaria. Cup9 es otra proteína reguladora identificada en levaduras. Esta proteína puede actuar como un factor transcripcional que regula la expresión de los genes involucrados en la distribución intracelular de cobre.

Los elementos que responden a metal [*metal responsive elements* (MRE)] han sido encontrados en todos los promotores de MT, y están compuestos por una serie de 13 a 15 pb de repeticiones imperfectas. Sin embargo, se han encontrado interesantes diferencias entre los promotores de MT en levaduras y mamíferos (*ver Capítulo 1.31*):

1. Los MRE en las MT de mamíferos no muestran una semejanza a los sitios de unión para Ace1 y Amt1.

2. A diferencia de la MT de mamíferos, los genes de MT en levaduras son activados transcripcionalmente por cobre.

3. Algunos promotores de MT de origen mamífero, incluyendo MT1 de ratón y MTII de humano, contienen otros elementos reguladores intercalados con MRE (SP1, AP2, AABS).

Estas diferencias sugieren que el mecanismo regulador de la transcripción dependiente de Cu en las MT de las especies mamíferas involucra un set diferente de proteínas que se unen a DNA. Probablemente, se requiere una interacción proteína-proteína entre ellas, para formar un complejo traduccional funcional y así regular la expresión de los genes de MT y los otros genes blancos.

Una importante característica de los factores dependientes de cobre (Ace1, Amt1 y Mac1) es su asociación a la expresión de otros genes relacionados

con procesos fisiológicos. Así, se ha demostrado que el promotor de la SOD1 contiene un sitio único de unión para Ace1 y que este funciona *in vivo* corregulando la transcripción de SOD1 y MT en respuesta a cobre. Además, se encontró que Mac1 regula la transcripción de dos genes blancos, FRE1 (codifica una proteína de la membrana plasmática asociada a la reducción de Cu^{+2} y Fe^{+3}), y CTR1. También se demostró que los fenotipos mutantes de mac1 en levaduras pueden ser recuperados por la adición de cobre. Estos resultados, en su conjunto, indican que la ausencia de cobre en levaduras produce efectos dramáticos en algunos procesos celulares, tales como proliferación, crecimiento y actividad metabólica. Algunos de estos efectos se relacionan con disfunciones de factores de transcripción dependientes de cobre, sugiriendo, por tanto, que el cobre tiene un papel principal en la fisiología de las células eucarióticas.

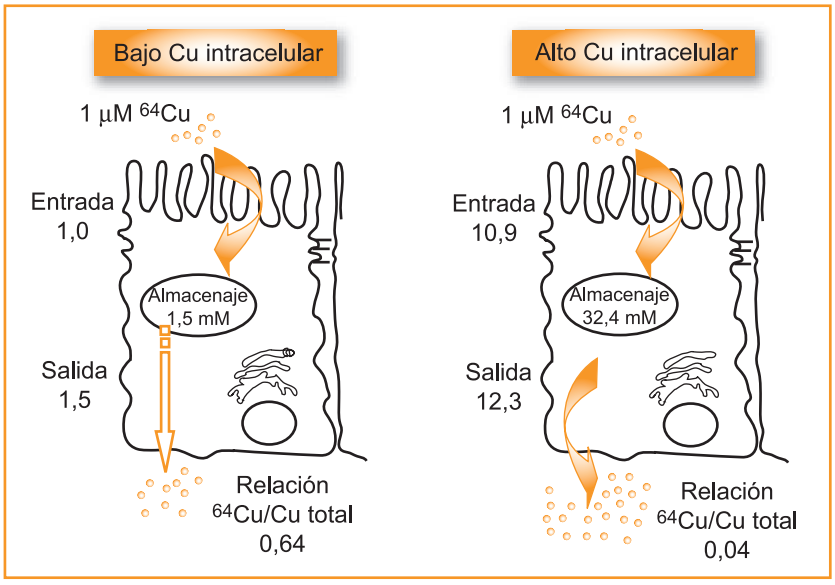


Figura 1. *Metabolismo de cobre en células intestinales expuestas a bajas y altas concentraciones de cobre.*

El promotor de MT en ratas ha sido el más estudiado de los sistemas trancripcionales regulados por metal, y se ha visto que existen factores nucleares que se unen a la secuencia regulada por metal en el gen de la MT. Un factor de transcripción con un dedo de Zn, MTF1, el cual se une a MRE, fue clonado en ratón, y se postuló que su actividad es controlada por un inhibidor sensible al metal. Interesantemente, en ensayos con transfecciones transientes de construcciones heterólogas de CAT, mostraron que los promotores de MT2A, MT1X y MT1H humanos pueden responder a metales, incluyendo zinc y cobre. Evidentemente, se requieren más estudios sobre los mecanismos de transcripción regulada por cobre en mamíferos, especialmente a nivel celular y molecular, conectando los factores de transcripción dependientes de cobre y los diferentes procesos fisiológicos celulares.

Los requerimientos de cobre han sido establecidos mediante estudios controlados, en los cuales los sujetos han sido sometidos a ingestas bajas de cobre (estudios de depleción) y pruebas de repleción, evaluándose su efecto sobre el estado nutricional de este mineral esencial.

2.2. Regulación molecular, celular y corporal de la homeostasis del cobre

2.2.1. Homeostasis celular y molecular de cobre

El enterocito es la principal barrera de entrada para el hierro; sin embargo, también existe regulación en la entrada de cobre, a pesar de que la célula hepática es el centro regulador de su metabolismo. En la célula intestinal, el cobre es captado por el transportador DMT1 (50-55%) y el transportador hCTR1. En la membrana apical existen oxido-reductasas que reducen el Cu^{+2} a Cu^{+1}, y en estas condiciones el cobre es captado por los transportadores. Una vez en el citoplasma, el cobre es quelado por las metalotioneínas y, de esta forma, es transportado a las distintas chaperonas de cobre en la célula. Las células intestinales (Caco-2) crecidas en condiciones de deficiencia de cobre captan mayor cantidad de cobre que las células crecidas en altas concentraciones del metal **(Figura 1)**. Así, bajo condiciones de deficiencia, la principal función de la célula es captar el metal y entregarlo por la membrana basolateral hacia la circulación, para ser utilizado por los distintos órganos. En cambio, cuando el contenido de cobre interno es alto, la célula capta una menor

concentración del metal, sin embargo, la cantidad neta de entrega al basolateral es mayor en estas células debido al aporte propio de cobre de esta célula.

La **Figura 2** muestra la interacción entre algunos de los elementos involucrados en el metabolismo del cobre en una célula hepática. El cobre plasmático (unido a histidina o albúmina) entra a la célula a través de los transportadores Ctr1 o DMT1. Una vez en el citosol, y dependiendo de las necesidades de la célula, el cobre puede ser "almacenado" en la metalotioneína o ser distribuido por las distintas chaperonas (HAH1, Ccs, Cox17) hacia los distintos organelos o enzimas para su utilización. Es así como puede ser entregado al TGN, a la mitocondria o a la enzima Cu/Zn SOD. La ATPasa de Wilson se localiza en la membrana del aparato de Golgi y así permite la entrada del metal a esta red y a través de ella será enviado a los lisosomas para su posterior liberación al plasma o eliminación por los canalículos biliares.

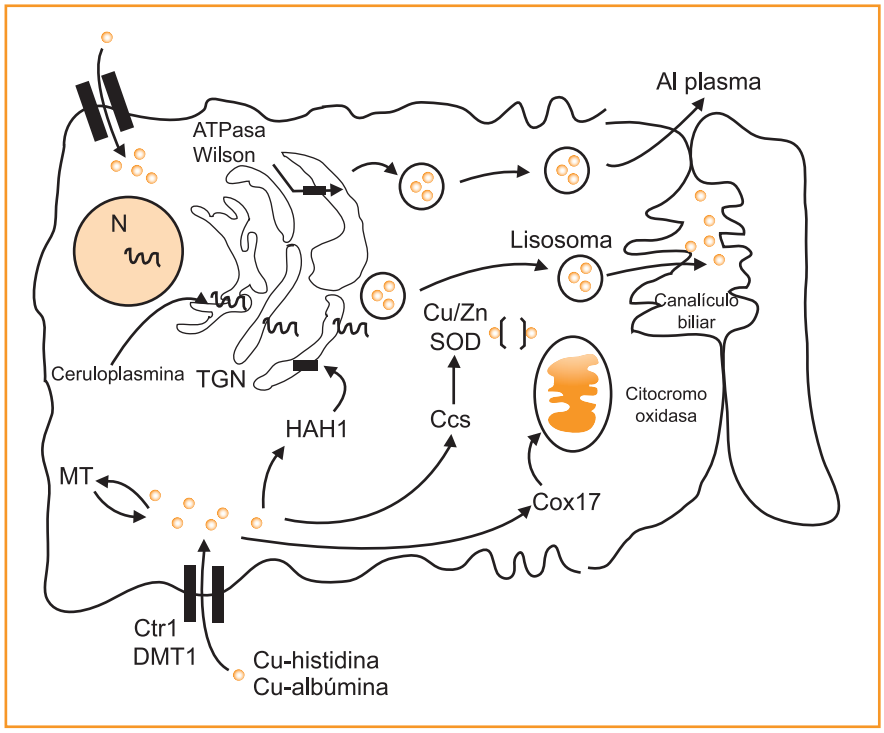


Figura 2. *Modelo del metabolismo de cobre en la célula hepática.*

2.2.2. *Homeostasis corporal del cobre*

El contenido de cobre de un adulto de 70 kg es de alrededor de 110 mg, de los cuales 10 mg corresponden al hígado, 8,8 mg al cerebro, 6 mg a la sangre, 3 mg al riñón, 46 mg al esqueleto (incluida la médula ósea) y 26 mg al músculo esquelético.

La homeostasis de cobre se alcanza mediante modificaciones en la absorción y la excreción biliar de cobre **(Figura 3)**. La homeostasis de cobre es un fenómeno altamente regulado, que depende de la cantidad de cobre presente en el lumen intestinal, la proporción de inhibidores y facilitadores de la absorción y del estado nutricional de cobre. La absorción de cobre ocurre en el duodeno y yeyuno. Una pequeña fracción es absorbida en el estómago. La fracción aparente de cobre absorbido varía entre un 15 y un 80% (más frecuentemente entre 40 y 60%). La forma química en la que el cobre se encuentra en el lumen intestinal afecta marcadamente su absorción. A medida que la solubilidad es mayor, la absorción es más eficiente. El pH gástrico tiene un papel importante, al facilitar la solubilidad del cobre y al modular la interacción con ligandos y otros componentes del bolo dietético. Los factores que reducen la absorción de cobre reducen la solubilidad intraluminal de este mineral, y/o compiten con el transporte de cobre a través de la mucosa. Favorecen la absorción de cobre la proteína animal, la leche humana y la histidina. Por el contrario, tienen una acción inhibitoria la leche de vaca, fitatos (demostrado en animales), fructosa, ácido ascórbico (demostrado en animales), Zn, Fe, Ni y Mo.

La absorción de cobre es influenciada por su ingesta. A ingestas bajas, la absorción ocurre probablemente por un transporte activo saturable, mientras que a ingestas altas juega un papel importante la difusión pasiva. Los estudios con isótopos estables sugieren que la regulación de la absorción es el principal mecanismo de control cuando la ingesta de cobre es baja. En esta situación la fracción absor-

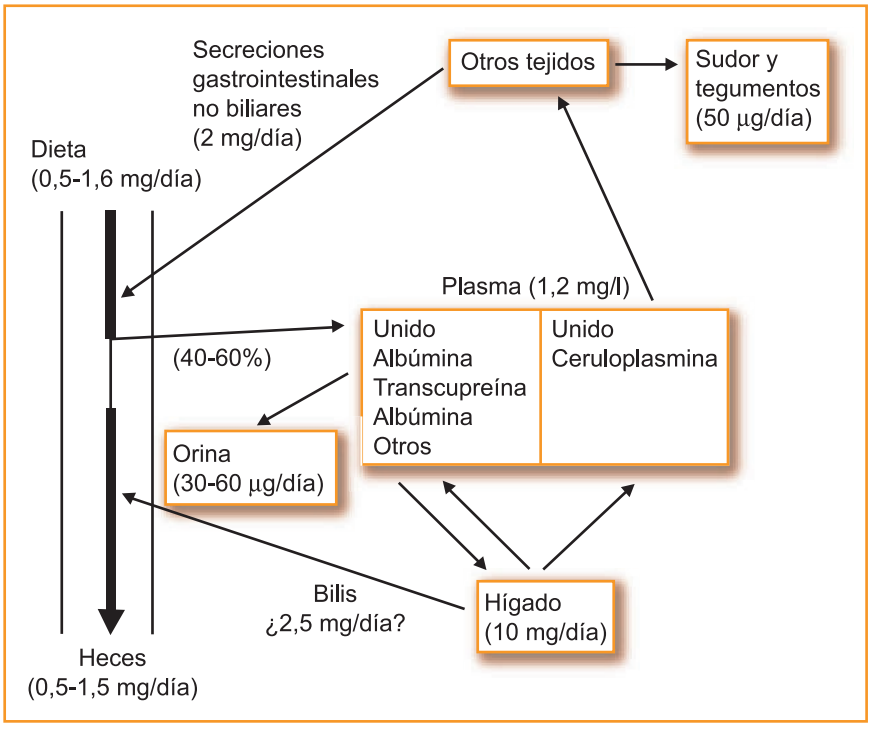


Figura 3. *Metabolismo corporal de cobre. Fuente: adaptado de Linder y Hazegh-Azam.* Am J Clin Nutr *1996; 63: 797S-811S.*

bida aumenta notablemente, y las pérdidas endógenas se reducen. Por el contrario, cuando la ingesta es elevada, la reducción de la fracción absorbida no previene totalmente la absorción de un exceso de cobre, siendo este exceso entonces eliminado, aumentando las pérdidas endógenas. La absorción de cobre se adapta más rápido a una ingesta baja que ante una ingesta elevada de este mineral.

Una vez absorbido el cobre, es transportado desde la mucosa intestinal a la sangre portal unido principalmente a la albúmina, y en menor proporción unido a transcupreína, aminoácidos (histidina, treonina, cisteína) o péptidos que contienen estos aminoácidos.

El hígado juega un papel central en la excreción de cobre y el control del metabolismo de este mineral. El tejido hepático remueve el cobre desde la circulación, atrapándolo en proteínas quelantes de este mineral, las cuales lo transfieren a cuproenzimas y a la ceruloplasmina. El cobre es devuelto a la circulación extrahepática unido principalmente a la ceruloplasmina. Una proporción del mismo es almacenada en el hígado unida a la metalotioneína, superóxido dismutasa y otras proteínas ligantes, mientras que el exceso es excretado hacia la bilis.

La eliminación del cobre ocurre principalmente por el tracto gastrointestinal, ya sea por la excreción biliar o como cobre no absorbido. Las pérdidas por el sudor, menstruación u orina son mínimas. Una proporción importante del cobre ingerido no es absorbida, a lo que se suma el cobre excretado por el tracto biliar, la saliva, otras secreciones gastrointestinales y descamación de enterocitos. Sólo un 10-15% del cobre eliminado por la vía biliar es reabsorbido. Sin embargo, el cobre presente en otras secreciones gastrointestinales probablemente está disponible para su reabsorción. La secreción endógena biliar de cobre aumenta cuando la ingesta de cobre es excesiva, y ésta disminuye en la deficiencia de cobre o cuando la ingesta se ve reducida.

En la sangre el cobre se distribuye principalmente entre los eritrocitos y el plasma. Alrededor de un 60% del cobre eritrocitario se encuentra en la superóxido dismutasa, estando el 40% remanente unido laxamente a otras proteínas y aminoácidos. En el plasma, alrededor de un 90-95% del cobre se encuentra unido firmemente a la ceruloplasmina, y el 5-10% remanente se encuentra unido menos firmemente a la albúmina, transcupreína, y otros componentes de bajo peso molecular.

2.3. Efectos bioquímicos funcionales del déficit de cobre (indicadores)

La deficiencia de cobre ocurre en etapas de severidad creciente (deficiencias marginal, moderada y severa o clínica). Para la evaluación de la nutrición de cobre se pueden utilizan diversos indicadores:

1. Niveles de cobre en suero/plasma, eritrocitos, leucocitos.

2. Cuantificación de proteínas ligantes de cobre: ceruloplasmina (actividad, masa, proporción) en plasma o suero, metalotioneína en eritrocitos.

3. Actividad de enzimas cobre dependientes: Superóxido dismutasa eritrocitaria, citocromo *c* oxidasa, diamino oxidasa, peptidil glicina α-amidante monooxigenasa plasmática (PAM).

4. Alteraciones funcionales.

5. Manifestaciones clínicas: anemia, neutropenia, alteraciones óseas.

La medición de los niveles de cobre y ceruloplasmina en suero/plasma es ampliamente utilizada para evaluar la nutrición de cobre. Estos parámetros de laboratorio están disminuidos en la deficiencia de cobre (genética o adquirida) moderada a severa, siendo menos sensibles para la deficiencia marginal de este elemento, especialmente cuando ésta es de reciente data. Los niveles de cobre y ceruloplasmina experimentan cambios relacionados con la edad y el sexo. Durante los 6 primeros meses de vida sus concentraciones son bajas, alcanzando los valores del adulto a los 4-6 meses de edad. En los niños con bajo peso de nacimiento estos niveles suben más lentamente. Por otra parte, es bien sabido que las mujeres adultas presentan valores más elevados que los hombres. Durante el embarazo hay un aumento progresivo de las concentraciones séricas/plasmáticas de cobre y ceruloplasmina. Existen otras condiciones que modifican estos parámetros de laboratorio. La concentración de cobre tiene una variación diurna, siendo ligeramente más alta por la mañana que en otros momentos del día. Se encuentra un aumento de las concentraciones de cobre y ceruloplasmina en los procesos inflamatorios o infecciosos, neoplasias y terapia con anticonvulsivantes o estrógenos. El efecto mediado por los estrógenos puede explicar en parte el aumento durante el embarazo. Al contrario, los corticosteroides y ACTH reducen los niveles de cobre. Las concentraciones de cobre y ceruloplasmina se encuentran disminuidas en otras patologías tales como la enfermedad de Wilson y el síndrome nefrótico.

Estudios más recientes han demostrado que en la deficiencia de cobre se encuentra más disminuida la actividad enzimática de la ceruloplasmina que su concentración, por lo que la determinación de la proporción actividad enzimática: concentración podría ser un mejor indicador de deficiencia de cobre, con la ventaja adicional de que esta proporción no es afectada por factores tales como hormonas o género.

La medición del cobre en pelo ha probado no ser muy útil, ya que la concentración de cobre se encuentra sólo disminuida en una deficiencia prolongada y puede modificarse por la contaminación externa con cobre.

La Cu/Zn superóxido dismutasa es una enzima que se encuentra en el citosol de muchas células, incluyendo los eritrocitos. En la deficiencia de cobre se encuentra una reducción de la actividad de esta enzima, la cual es proporcional a la magnitud de la deficiencia. Este indicador sería útil para detectar una deficiencia marginal a moderada de cobre. La actividad de esta enzima no varía con la edad, género o terapia hormonal. Sin embargo, un aumento de la actividad se puede encontrar en condiciones en que existe estrés oxidativo, así como en pacientes con la enfermedad de Alzheimer.

La actividad de citocromo *c* oxidasa de leucocitos y plaquetas se encuentra reducida en la deficiencia de cobre. Esta reducción de la actividad precede a la disminución de la actividad de SOD1, siendo un indicador sensible de deficiencia marginal de cobre. Este indicador no presenta variaciones relacionadas con el sexo o terapia hormonal. Las mujeres jóvenes tienen valores más bajos que las mayores. La enzima es muy lábil, lo que dificulta su empleo en estudios de campo.

La actividad de la diamino oxidasa plasmática se encuentra reducida en la deficiencia marginal de cobre. Las mujeres tienen valores más altos que los hombres. Aumenta en embarazo, cáncer, fibrosis quística, isquemia intestinal, daño renal. Está disminuida en la enfermedad de Crohn y enfermedad celiaca.

La cuantificación de la actividad de la PAM en la sangre se encuentra en estudio experimental. Las evidencias sugieren que sería sensible a la deficiencia marginal de cobre.

La principal dificultad para la utilización de la actividad de cuproenzimas en la evaluación de la nutrición de cobre es la importante variabilidad inter individuos que éstas presentan, así como la falta de estandarización que lleva a que cada laboratorio debe definir sus propios valores normales.

Las alteraciones funcionales relacionadas a la deficiencia de cobre no son utilizadas en la detección de individuos deficientes, debido a su importante inespecificidad. Entre las alteraciones susceptibles de evaluar se encuentran la disminución de la tolerancia a la glucosa, anormalidades del ritmo cardiaco, respuesta hipertensiva en la prueba del dina-

mómetro de mano, alteración de los patrones de sueño, disminución de capacidad fagocítica de los neutrófilos y reducción de la inmunidad celular.

Las alteraciones clínicas asociadas al déficit de cobre también son inespecíficas y sólo aparecen en la deficiencia severa de este metal, por lo que no son de utilidad para la detección precoz de esta deficiencia ni para estudios poblacionales.

2.4. Efectos bioquímicos funcionales del exceso de cobre (indicadores)

Los indicadores de laboratorio utilizados para evaluar la deficiencia de cobre normalmente no son de utilidad para detectar un exceso de cobre. En intoxicaciones agudas de cobre es posible encontrar un aumento de la cupremia. Por otra parte, una cupremia y ceruloplasmina por debajo de lo normal también se aprecian en la enfermedad de Wilson.

En la actualidad, no existen métodos que permitan detectar tempranamente una sobrecarga de cobre. La medición del contenido de cobre hepático es un indicador sensible y específico de sobrecarga precoz de cobre, pero, por requerir una biopsia, esta metodología no es posible efectuarla, a menos que los sujetos presenten una fuerte sospecha de una sobrecarga de cobre, lo que ocurre cuando la sobrecarga es importante, existiendo muchas veces ya un daño hepático.

En un intento por detectar precozmente sobrecarga de cobre se han utilizado sin éxito la determinación de la concentración de metalotioneína eritrocitaria, la excreción urinaria de cobre, la excreción urinaria de cobre después de administrar un quelante de este metal y la medición (teórica o experimental) de la fracción de cobre no unida a ceruloplasmina. En la enfermedad de Wilson o cirrosis infantil asociada a cobre existe un aumento de la excreción urinaria de cobre con o sin la administración de un quelante, así como del cobre no ceruloplasmínico.

2.5. Déficit de cobre de causas nutricionales y genéticas

La deficiencia adquirida de cobre es el principal problema de salud relacionado con este mineral. Ocurre principalmente en lactantes, aunque también ha sido descrita en otras edades, incluso en el adulto, y es la consecuencia de depósitos de cobre disminuidos al nacer, consumo de dietas con bajo contenido de cobre y/o baja biodisponibilidad, aumento de las necesidades (crecimiento, embarazo) y aumento de las pérdidas.

La deficiencia de cobre es más frecuente en lactantes pretérmino, especialmente en los de bajo peso de nacimiento, debido a sus reducidos depósitos de cobre al nacer por el menor tamaño relativo del hígado y a sus elevados requerimientos por su mayor velocidad de crecimiento.

Los lactantes alimentados con leche de vaca están más predispuestos a desarrollar una deficiencia de cobre, debido al bajo contenido y pobre absorción del cobre de esta leche. Por el contrario, la leche humana tiene un mayor contenido de cobre y una mejor absorción, probablemente debido a su menor contenido de caseína o por otros factores presentes en la leche materna. En los países en desarrollo, en los que la alimentación infantil está a menudo basada en leche de vaca enriquecida con una alta concentración de hidratos de carbono refinados, la deficiencia de cobre sería más prevalente, dado que la fructosa y otros azúcares refinados disminuyen la absorción de cobre.

La deficiencia de cobre se ha descrito en sujetos con síndromes de malabsorción como la enfermedad celiaca, *sprue* tropical y no tropical, fibrosis quística o intestino corto. Un aumento de las pérdidas gastrointestinales también puede causar un déficit de cobre; por ello, esta condición debe ser investigada en sujetos con diarrea recurrente o prolongada, pérdidas biliares anormales, resecciones intestinales extensas o pérdidas de contenido intestinal por fístulas intestinales.

Dosis altas de zinc disminuyen la absorción de cobre y predisponen a una deficiencia de este mineral. Este fenómeno ha sido utilizado como una estrategia terapéutica en la enfermedad de Wilson, en la que con dosis altas de zinc (40-50 mg/día) se ha demostrado una reducción de la absorción de cobre. Deficiencia de cobre se ha documentado también en sujetos tratados con penicilamina u otros agentes quelantes de cationes.

Se han comunicado casos de deficiencia de cobre en sujetos con nutrición parenteral sin una adecuada provisión de cobre.

La causa más frecuente de deficiencia de cobre es un aporte insuficiente de cobre durante la recu-

peración nutricional de niños desnutridos. Estos niños presentan varios de los factores más frecuentemente asociados a una deficiencia de cobre, tales como: bajo peso en nacimiento, corta lactancia materna, dieta basada en leche de vaca y hidratos de carbono refinados, aumento de las pérdidas de nutrientes debido a diarreas a repetición. Durante la recuperación nutricional estos niños crecen de 5 a 10 veces el crecimiento habitual a la edad y, por tanto, tienen enormemente aumentadas las necesidades de cobre impuestas por el crecimiento.

Las manifestaciones clínicas mas frecuentes de la deficiencia de cobre son anemia, neutropenia y alteraciones óseas. La trombocitopenia es un hallazgo menos frecuente. La anemia es de tipo normocítico o macrocítico, normo o hipocroma, que se acompaña de un recuento de reticulocitos disminuido e hipoferremia. En una pequeña proporción de los casos la anemia es microcítica. En la médula ósea se aprecian cambios megaloblásticos, vacuolización de los precursores mieloides y eritroides, detención de la maduración de los precursores mieloides y presencia de sideroblastos anillados.

Las alteraciones óseas pueden semejar a las observadas en el escorbuto e incluyen osteoporosis, fracturas de huesos largos y costillas, separación de las epífisis, desflecamiento y deformación en copa de las metáfisis con formación de espolones y neoformación ósea subperióstica. Manifestaciones menos frecuentes son la hipopigmentación del pelo, hipotonía, alteración del crecimiento, aumento de la incidencia de infecciones, alteraciones de la capacidad fagocítica de los neutrófilos y de la inmunidad celular. Anormalidades menos frecuentes y no totalmente comprobadas serían la alteración de la tolerancia a la glucosa, hipercolesterolemia, alteraciones del ritmo cardiaco y aumento de la respuesta hipertensiva en la prueba del dinamómetro de mano. Por otra parte, algunos estudios han encontrado una asociación entre niveles de cobre disminuidos y riesgo cardiovascular aumentado.

La enfermedad de Menkes es una deficiencia de cobre debida a un defecto genético recesivo ligado al cromosoma X, en que existe un defecto del gen que codifica la proteína transportadora ATP7A, y que se caracteriza por una alteración de la absorción y transporte de cobre, quedando este mineral atrapado dentro del enterocito. Su frecuencia es de 1 por cada 250.000 nacimientos. Los síntomas aparecen antes del tercer mes de edad y llevan a la muerte antes de los 5 años de vida. Se caracteriza por retardo del crecimiento, hipotermia, despigmentación del pelo y cutánea, pelo ensortijado en espiral *(pili torti)*, laxitud de piel y articulaciones, dilatación y tortuosidad de grandes arterias, varices venosas, osteoporosis, desflecamiento de las metáfisis, fracturas óseas, formación aumentada de huesos wormianos, distrofia retiniana y daño profundo del sistema nerviosos central que incluye retardo mental severo, convulsiones y ataxia. Hasta la fecha no existe un tratamiento efectivo. Existe una variante de la enfermedad más leve, denominada cuerno occipital, en la que los síntomas son menos intensos y de progresión más lenta, pudiendo los sujetos llegar a la vida adulta. De forma característica en la radiografía de cráneo se aprecian cuernos en el hueso occipital.

2.6. Exceso de cobre de causas nutricionales y genéticas

La sobrecarga de cobre puede ser consecuencia de un defecto genético autosómico recesivo del metabolismo del cobre (enfermedad de Wilson) o de origen ambiental.

En la enfermedad de Wilson, principal causa de sobrecarga de cobre, existe una ausencia o una disfunción de la ATPasa tipo P denominada ATP7B, que determina una incapacidad del hígado para exportar el cobre a la circulación y para excretarlo por la vía biliar. Su incidencia es de 1:30.000 nacimientos, con una frecuencia de portadores de 1 entre 90. Esta patología, que excepcionalmente aparece antes de los 5 años de edad, presenta una gran diversidad de manifestaciones clínicas, así como diferencias en la severidad de la sintomatología, que son explicables por la heterogeneidad de la alteración genética localizada en el cromosoma 13. Las manifestaciones clínicas dependen del depósito de cobre en órganos específicos, principalmente en el hígado, cerebro y córnea (anillo de Kayser-Fleischer). Las más frecuentes formas de presentación de la enfermedad son la de una enfermedad hepática crónica (inflamación, fibrosis, cirrosis) y/o alteraciones neurológicas (síntomas extrapiramidales) o psiquiátricas, frecuentemente asociadas a una disfunción renal. En algunas series publicadas son frecuentes también manifestaciones oftalmológicas, hematológicas y esqueléticas. A pesar de las elevadas concentraciones de cobre hepático, evidenciable en la biopsia, los niveles de

cobre y ceruloplasmina sanguíneos están por debajo de lo normal, mientras que la excreción urinaria de cobre está aumentada. El diagnóstico se establece, independientemente de si el sujeto es asintomático o no, mediante los exámenes de laboratorio antes mencionados y el hallazgo de un exceso de cobre en una biopsia hepática.

La restricción de la ingesta de cobre tiene poco impacto en el curso de la enfermedad, de modo que la estrategia terapéutica se dirige a disminuir la absorción de cobre, utilizando dosis farmacológicas de zinc y/o aumentar la excreción urinaria de cobre administrando agentes quelantes como la penicilamina o el DMPS.

La toxicidad crónica de origen ambiental es aún más infrecuente. Ésta suele ocurrir en conglomerados en áreas geográficas muy específicas. En la India casos de cirrosis infantil (cirrosis infantil de la India) se han asociado a una ingesta excesiva de cobre derivada del consumo de leche almacenada y/o calentada en recipientes de bronce o cobre. El consumo diario de cobre estimado en estos sujetos es de 930 ± 36 μg/kg. En el Tirol se describieron casos de cirrosis infantil antes de 1974. En dicho lugar existía la costumbre de preparar los alimentos en utensilios de cobre. En ambas regiones, el reemplazo de los recipientes o utensilios de cobre ha producido una reducción o eliminación de los casos de cirrosis. Casos esporádicos de cirrosis infantil en otras áreas del mundo se han atribuido al consumo de agua con un alto contenido de cobre. Si bien una ingesta crónica excesiva de cobre puede producir una cirrosis, el hecho de que algunos de los casos hayan ocurrido en matrimonios consanguíneos, que sean más frecuentes en el sexo masculino y que algunos pacientes no hayan recibido altas concentraciones de cobre en la dieta (incluyendo el agua) sugieren un posible origen genético en algunos de estos casos. Esta anomalía genética determinaría un aumento de la susceptibilidad a la toxicidad a ingestas de cobre normales o ligeramente elevadas.

La ingestión de cantidades altas de cobre en forma crónica es capaz de producir un daño hepático. Existe un caso anecdótico, en el que, después de que un individuo adulto se autoadministró diariamente 30 mg de cobre por 30 meses y luego duplicó esta dosis durante 1 año, tuvo que recibir un transplante hepático como tratamiento de la severa cirrosis hepática que desarrolló.

2.7. Cómo cumplir con las recomendaciones dietéticas bajo condiciones de salud y enfermedad

Diversos organismos internacionales han establecido ingestas recomendadas de cobre. Las recomendaciones más recientes son las publicadas en el año 2002 por el Instituto de Medicina de Estados Unidos. La ingesta adecuada de cobre según el Instituto de Medicina es de 200 μg diarios para los lactantes de 0-6 meses de edad y 220 μg entre los 7 y los 12 meses. La ingesta recomendada diaria es de 340 μg entre 1 y 3 años, 440 μg a los 4-8 años, 700 μg a los 9-13 años, 890 μg entre 14 y 18 años, y 900 μg para los mayores de 18 años. La ingesta diaria recomendada para la embarazada es de 1.000 μg, y para la nodriza, de 1.300 μg. La ingesta diaria superior tolerable de cobre propuesta es de 1.000 μg entre 1 y 3 años, 3.000 μg a los 4-8 años, 5.000 μg a los 9-13 años, 8.000 μg entre los 14 y los 18 años, y 10.000 μg después de los 18 años.

Existen ciertas condiciones en las cuales los requerimientos de cobre están aumentados sobre lo normal y otras en las que ingestas de este mineral dentro de los límites aceptables se asocian a una sobrecarga.

La nutrición de cobre durante la vida fetal depende del balance entre los elevados requerimientos, debido al rápido crecimiento y al transporte placentario. El feto acumula cobre a una velocidad de 50 μg/kg/diarios, principalmente durante la segunda mitad de la gestación. Aproximadamente 50% de éste es acumulado en el hígado. El hecho de que el cobre se acumule mayormente durante el tercer trimestre de gestación explica el que la deficiencia de cobre sea más frecuente en el recién nacido pretérmino. La mayor velocidad de incremento ponderal de los niños pretérmino aumenta el riesgo de experimentar una deficiencia de cobre. Por esta razón, las formulas lácteas para los niños pretérmino tienen una concentración de cobre más alta que las fórmulas para niños de término.

Después del nacimiento la concentración de cobre cae apreciablemente, debido a que la dieta inicial no es capaz de suplir los requerimientos impuestos por el rápido crecimiento de este periodo. Esta situación es más pronunciada en los niños alimentados con leche de vaca, ya que ésta presenta un menor contenido de cobre y más baja absorción

que la leche humana. Por esta razón las fórmulas infantiles están enriquecidas con cobre. El contenido de cobre en las fórmulas infantiles varía dependiendo de las necesidades del niño (término o pretérmino). La *United States Food and Drug Administration* de Estados Unidos, El *Codex Alimentarius* y la Academia Americana de Pediatría recomiendan una especificación mínima de cobre para las fórmulas infantiles de 0,6 µg de Cu/kcal, mientras la *European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* recomienda un contenido de entre 0,9 y 2 µg Cu/kcal.

Los niños desnutridos tienen un alto riesgo de desarrollar una deficiencia de cobre, ya que suelen reunir varios de los factores condicionantes de una deficiencia de cobre, tales como prematuridad, corta lactancia materna, alimentación en base a leche de vaca sin modificaciones y diarreas a repetición. Este riesgo aumenta en el periodo de recuperación nutricional, debido al aumento de la velocidad de incremento ponderal. Es por ello que se recomienda suplementar con cobre medicinal (80 µg/kg/día), una vez que se inicia el incremento de peso.

La embarazada presenta requerimientos de cobre aumentados debido al aumento de algunos tejidos maternos, el contenido de la placenta y las necesidades del feto. Si bien la deficiencia de cobre es infrecuente en esta condición, puede afectar el normal desarrollo embrionario o fetal, por lo que es fundamental asegurar una ingesta adecuada de cobre durante este periodo.

Existe un grupo de patologías del metabolismo del cobre (enfermedad de Menkes, enfermedad de Wilson, aceruloplasminemia, obstrucción biliar) en las que el curso de la enfermedad no es influenciado por la ingesta de cobre y en que se han utilizado otras medidas terapéuticas. La acerulopasminemia es un desorden genético recesivo en el que existe una neurodegeneración de la retina y ganglios basales con un aumento de la concentración de hierro en dichos tejidos. En la obstrucción biliar se encuentra comprometida la capacidad de excretar cobre, con el consiguiente aumento del contenido hepático de este mineral. En la cirrosis infantil asociada a cobre, se ha planteado la existencia de un defecto del metabolismo del cobre aún no establecido, por el cual, con ingestas normales o aumentadas de este mineral, se desarrolla la enfermedad. Como medida preventiva, sería aconsejable evitar aquellas circunstancias que llevan a una ingesta aumentada de cobre, como es el almacenar y/o hervir la leche en recipientes que contienen cobre (*ver apartado 2.7*) o evitar utilizar agua en la preparación de fórmulas infantiles cuando la concentración de cobre en el agua excede los límites recomendados (2 mg de Cu/l).

En sujetos afectados por una deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa no es aconsejable la administración de suplementos de cobre, ya que dichos sujetos son más susceptibles a un daño de los eritrocitos (hemólisis intravascular, inducida por las propiedades oxidantes del cobre).

3. El zinc en la nutrición humana

3.1. Bases bioquímicas de la esencialidad (requerimientos)

El zinc forma parte de una gran cantidad de enzimas y de otros metabolitos, distribuidos en todos los órganos, fluidos y secreciones del cuerpo humano. La mayor proporción del Zn corporal está contenida en el músculo esquelético (50-60%), siendo apreciable también su contenido en el hueso (25-30%, que puede llegar a un 40% en el recién nacido de término). Sin embargo, hay otros órganos con concentraciones de Zn semejantes a los órganos mencionados (hígado, riñón, con 50-60 µg Zn/g).

La esencialidad del zinc está dada por roles insustituibles relacionados principalmente con sistemas enzimáticos de los procesos de división y multiplicación celular y con los sistemas metabólico-hormonales de regulación. Además, está ampliamente demostrado que la deficiencia nutricional de Zn puede llevar a signos clínicos de enfermedad, los cuales mejoran con la normalización de la nutrición de zinc.

Los requerimientos de Zn propuestos hasta ahora han tenido la dificultad de no disponer aún de un marcador de deficiencia que sea sensible y específico. Esto determina que exista cierta variabilidad en las sugerencias de requerimientos y recomendaciones dadas por diversos organismos internacionales.

Un comité de expertos convocado por la OMS (1996) propuso que las recomendaciones debían basarse en los requerimientos metabólicos de cada edad, a lo que se agrega un factor dado por la interferencia de los fitatos en su absorción. Estas recomendaciones (límites inferiores de consumo de Zn) se ajustaban para dietas con baja biodisponibilidad de Zn (contenido de fitatos > 15 mg/día), mediana biodisponibilidad (10-15 mg de fitatos/día) y alta biodisponibilidad (< 15 mg de fitatos diarios). Es así como para las recomendaciones mínimas de consumo de Zn propuestas para dietas infantiles con baja biodisponibilidad son 7,9 mg/día para 1-3 años, 9,2 mg/día para edades entre 3 y 6 años y de 10,7 mg/día para 6-10 años de edad.

La prevalencia real de la deficiencia de zinc no se conoce con exactitud, ya que, a diferencia de lo que ocurre para el hierro, no se cuenta con indicadores de laboratorio de alta sensibilidad y fiabilidad. Esto ha dificultado en cierta medida la estimación de la real magnitud y trascendencia del problema nutricional de zinc. Recientemente, un grupo de expertos convocados por UNICEF en Brisbane, Australia, concluyó que la deficiencia de zinc es un problema prevalente en los países en desarrollo y que en magnitud sería semejante a la deficiencia de hierro. Estudios llevados a cabo en Chile en distintos grupos como preescolares, escolares con retraso de talla, embarazadas adolescentes y adultos, han mostrado de forma consistente que el consumo de zinc por la dieta se encuentra entre el 50 y el 75% de las ingestas recomendadas. En un estudio representativo de la población de Santiago, un 80% de los hombres y un 71,2% de las mujeres adultas tenían una ingesta de zinc por debajo del promedio del requerimiento estimado. Observaciones en estudios de suplementación con zinc llevados a cabo en Chile han permitido identificar la presencia de deficiencia de zinc en estos grupos.

Las principales causas de las carencias de zinc son: depósitos reducidos al nacer (prematuridad, bajo peso de nacimiento), aportes inadecuados (deficiencia y/o baja disponibilidad de estos microminerales de la dieta), aumento de los requerimientos (crecimiento, embarazo) y pérdidas aumentadas. Las modificaciones y/o diversificaciones de la dieta, la fortificación de alimentos y la suplementación son las principales estrategias utilizadas para prevenir las deficiencias de micronutrientes.

3.2. Regulación celular y corporal de la homeostasis de zinc

El zinc es un ión de alta carga, hidrofílico y que no puede atravesar membranas biológicas por difusión pasiva, por lo que existen mecanismos especializados para su captación, transporte intracelular y liberación. La mayoría del zinc es absorbido por el intestino delgado por un proceso transcelular, teniendo el yeyuno la mayor velocidad de transporte. La absorción parece ser un proceso activo saturable que requiere ATP, existiendo un aumento de la velocidad de transporte en la depleción de zinc. Un transporte no saturable probablemente de tipo paracelular puede ocurrir a ingestas elevadas de zinc. Desde el intestino es transferido vía portal unido mayoritariamente a la albúmina (70%) y a la α_2-macroglobulina (20-40%). Existen otras proteínas que son capaces de ligar zinc, como la transferrina y una glicoproteína rica en histidina. El lumen intestinal es el principal sitio al cual se excreta el zinc a través de las secreciones pancreática, intestinal y biliar.

La absorción de Zn de la dieta depende del estado nutricional del individuo, composición de la dieta en cuanto a inhibidores y favorecedores e integridad del intestino. Algunos componentes de la dieta como fitatos y fibra forman compuestos de baja solubilidad con Zn, reduciendo la proporción de Zn que puede ser captada por el enterocito. Otros ligandos, como histidina, metionina y cisteína, favorecen la captación de Zn.

La acumulación de Zn en la célula es la suma del proceso de influjo y eflujo vía proteínas transportadoras, tales como los transportadores ZnT1, ZIP, DMT1, y de proteínas de almacenamiento, principalmente la metalotioneína (MT). La identificación de transportadores de Zn localizados en las membranas es relativamente reciente. Los transportadores de Zn difieren en: especificidad tisular, localización en la célula, movimiento hacia dentro o hacia fuera, expresión regulada o constitutiva, sensibilidad al Zn.

El transportador ZnT-1 se localiza en la membrana plasmática y participa como un exportador de Zn en virtualmente todos los órganos. Sin embargo, se ha propuesto, además, para Znt-1, un papel en la adquisición de Zn a nivel intestinal. ZnT-2 parece estar asociado a la captación de Zn al nivel de las vesículas intracelulares o con la exportación celular de Zn en

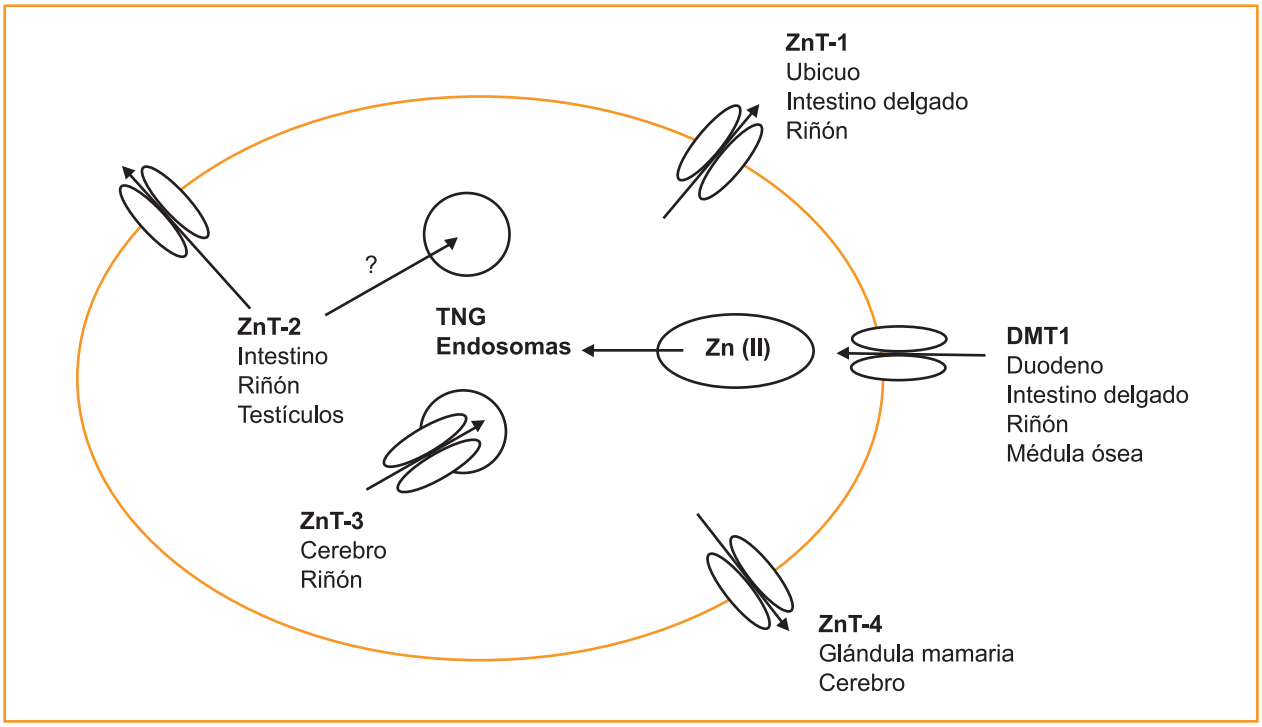


Figura 4. *Transportadores de zinc: familia ZnT y DMT1.*

muchos órganos. ZnT-3 está asociado a la captación intravesicular en neuronas y testículo. ZnT-4 probablemente está localizado en la membrana plasmática de glándulas mamarias y cerebro (papel exportador) **(Figura 4)**. ZnT-6 transporta Zn desde el citoplasma al sistema de Golgi. El transportador DMT1 tiene mayor afinidad para Zn^{+2} que para Fe^{+2}.

Otro componente importante en el movimiento de Zn es la familia de los transportadores ZIP, los cuales tienen un papel en el influjo de Zn. Se han identificado 12 genes que codifican proteínas del tipo ZIP, de las cuales se sospecha que varios corresponden a transportadores. Tres son los genes, *hZIP1*, *hZIP2* y *hZIP3*, que se sospecha que codifican para transportadores de iones de metales en humanos. Hasta el momento se les ha encontrado en librerías de cDNA de próstata y útero. Esto no descarta que eventualmente pudieran ser encontrados en el enterocito. Estos transportadores localizados en las membranas celulares fueron identificados por su analogía estructural con la familia ZRT de levaduras y de los transportadores IRT en *Arabidopis thaliana*. Los transportadores de la familia ZIP (ZTR1, IRT1-*like protein*), aunque inicialmente se les determinó como transportadores de Fe, transportan hacia la célula Mn^{+2}, Cd^{+2} y otros cationes divalentes, lo que para el Zn complementa las funciones de eflujo de la familia ZnT. En levaduras se ha visto recientemente que el transportador Fet4 es un mecanismo adicional de captación de Zn. Curiosamente, este transportador es también responsable de la captación de Fe y Cu. El papel de la metalotioneína, una proteína ligante intracelular, en la regulación de la absorción de Zn, particularmente en conjunción con los transportadores de Zn, está poco claro. Esta proteína es inducible por Zn, y otros metales, como Cu y Cd, a través de un mecanismo específico de regulación transcripcional. Esta proteína actúa controlando el nivel de Zn^{+2} libre intracelular.

Las metalotioneínas (MT) son proteínas de bajo peso molecular, ricas en cisteínas (30% de la proteína), y que se encuentran en un amplio grupo de organismos que incluye bacterias, levaduras, plantas y animales. Estas proteínas son el más abundante grupo de proteínas intracelulares que unen Zn en las células de eucariotas. Entre el 5 y el 10% del Zn en el hepatocito se encuentra unido a MT. Un papel fisiológico crítico se ha sugerido para las MT, con el objeto de controlar la disponibilidad para las proteínas que requieren Zn para su actividad.

3.3. Funciones dependientes de la nutrición de zinc

Las funciones que están claramente asociadas a deficiencia de zinc son: el crecimiento, la inmunidad y la cicatrización. A ello se puede agregar las evidencias iniciales para su participación en algunos aspectos del desarrollo psicomotor, en la regulación de la composición corporal y del apetito.

Son varios los pasos del crecimiento y multiplicación celular en que está involucrado el zinc. Es indispensable en sistemas enzimáticos que participan en la división celular y multiplicación celular (p. ej., deoxitimidín kinasa, ribonucleótido reductasa y adenosín tetrafosfato adenosina sintasa). Pero el paso limitante que puede explicar el compromiso de crecimiento corporal parece estar en la regulación hormonal de la división celular. Participa aquí en la actividad de hormona de crecimiento, IGF-1, así como de prolactina. Aunque forma parte de la estructura de la insulina, no hay evidencias claras que muestren una alteración de esta hormona ante una deficiencia nutricional de zinc. Además, tiene un papel importante en la regulación de las señales de membrana celular posreceptor.

Las alteraciones de inmunidad también están asociadas al proceso activo de división y multiplicación celular requerido para la defensa del huésped ante un agente microbiológico externo. Pero también tiene que ver con la autoprotección de las células inmunitarias de la producción de radicales libres (p. ej., superóxido dismutasa), necesarios para su capacidad bactericida. La deficiencia de zinc contribuye a la apoptosis de precursores y células B inmaduras en médula ósea y de precursoras de linfocitos T en el timo.

Hay algunos estudios de la última década analizando el efecto de la suplementación con zinc sobre el desarrollo psicomotor, en grupos de niños en riesgo de deficiencia de zinc. Un análisis reciente de los 7 trabajos sobre el tema al año 2003 mostraba que los 3 estudios que evaluaron actividad demostraban un efecto favorable de la suplementación con Zn; de los 5 estudios en niños pequeños que analizaban desarrollo motor, 2 encontraron un efecto y 3 ningún efecto; de los 3 estudios en escolares, 2 encontraron un efecto favorable de la suplementación sobre capacidad de razonamiento. Estos hallazgos evidencian la necesidad de estudios más controlados en niños con deficiencia real de zinc.

En la mayoría de las especies animales estudiadas, la deficiencia de zinc se acompaña de una disminución en el consumo de alimentos. En seres humanos también hay estudios, aunque más parciales, en el mismo sentido. Hay evidencias experimentales para varios sitios en esta relación tanto a nivel central como periférico. A nivel central, el zinc tiene participación en la liberación de neurotransmisores en los núcleos paraventriculares del hipotálamo, entre ellos, el neuropéptido Y, la galanina, β-endorfinas, necesarios para la activación de receptores de señales de apetito. También participan otros neuropéptidos tales como la hormona liberadora de corticotropina, y la hormona estimulante de melanocitos (α-MSH).

Hay algunas evidencias iniciales que demuestran que la deficiencia nutricional de zinc favorece modificaciones en la composición corporal, con un mayor depósito de tejido adiposo en vez de masa magra. Con el uso de técnicas como DEXA, impedancia bioeléctrica y de análisis de dilución de deuterio se están pudiendo estudiar mejor los cambios en el contenido de agua corporal total y masa grasa. Sin embargo, un estudio reciente español, efectuado en lactantes nacidos pretérmino (desde las 36 semanas de edad corregida hasta los 6 meses de edad) demostró un efecto de la suplementación con zinc (10 mg/día *vs.* 5 mg/día) sobre el agua corporal total, evaluada mediante impedancia bioelétrica. Finalmente, el estudio concluido recientemente por nuestro equipo demostró que la suplementación oral con zinc durante 1 año en lactantes de 18 meses eutróficos y de estratos socioeconómicos bajos tuvo un efecto significativo en composición corporal (evaluado por mejorías en el % de agua corporal total por encima de lo propio de estas edades), en aquellos lactantes que al ingreso tenían concentraciones de zinc plasmático < 80 µg/dl o concentraciones en pelo < 80 µg/g, es decir, en aquellos con evidencias de un estado nutricional de Zn deficiente.

3.4. Efectos bioquímicos funcionales del déficit de zinc (indicadores)

La valoración del estado de zinc en el hombre ha resultado complicado, por la carencia de marcadores bioquímicos que permitan una rápida y sensible medición del estado y las reservas corporales de zinc. El desarrollo de la espectrofotometría

de absorción atómica (EAA), especialmente aquella que cuenta con horno de grafito, ha permitido cuantificar zinc tanto a nivel plasmático como en otros fluidos y tejidos corporales (tales como leucocitos, eritrocitos, saliva, pelo, uñas).

Normalmente, el zinc plasmático se mantiene entre 11 y 17,6 µmol/l (0,72-1,15 µg/ml), existiendo pequeñas diferencias entre hombre y mujer. Sin embargo, la determinación de la concentración de zinc plasmático es un indicador insuficiente del estado de zinc, puesto que éste solamente se ve alterado cuando los depósitos de zinc se encuentran considerablemente disminuidos. Analizando diversos estudios se ha concluido que 12,3 µmol/l (80 µg/dl) es el punto de corte más adecuado para sospechar deficiencia de zinc. Sin embargo, las deficiencias marginales de zinc frecuentemente presentan concentraciones plasmáticas normales de zinc, por lo que la prueba clínica de suplementación y mejoría en algún parámetro clínico (crecimiento, infecciones) es la que hace el diagnóstico final.

El zinc presenta altas concentraciones en el pelo, por lo que se ha probado repetidamente como indicador de deficiencia de zinc. Se han sugerido, para sospechar dicha deficiencia, concentraciones por debajo de 1,23-1,53 µmol/g, pero resulta poco sensible nuevamente en deficiencias marginales. Las variaciones en las concentraciones séricas de fosfatasas alcalinas, en la membrana del glóbulo rojo, en leucocitos tienen también dificultades de sensibilidad-especificidad o en la factibilidad en condiciones clínicas.

Otro método alternativo de valoración del estado de zinc a nivel experimental ha sido el uso de los resultados funcionales, como, por ejemplo, inducción de metalotioneínas y angiotensina. La síntesis de MT dependiente de Zn refleja de un modo directo la ingesta de zinc. La MT eritrocitaria también se ve alterada frente a deficiencia de cierta intensidad o exceso del metal. La determinación conjunta del zinc plasmático y de la MT permiten diferenciar entre el tamaño de la reserva de zinc y su redistribución en el organismo.

3.5. Efectos bioquímicos funcionales del exceso de zinc (indicadores)

El zinc es uno de los oligoelementos menos tóxicos. Los suplementos de zinc en grandes cantidades (p. ej., de 70 a 100 veces las cantidades recomendadas) pueden causar diarrea, cólicos abdominales y vómito que se presentan en el lapso de 3 a 10 horas después del consumo del suplemento, y los síntomas disminuyen en un corto periodo de tiempo, después de la interrupción de su consumo.

Por lo general, los efectos tóxicos del zinc sólo se presentan a partir de la ingesta prolongada de dosis superiores a los 150 mg. Estos efectos incluyen anemia sideroblástica causada por deficiencia de cobre, bajos niveles de colesterol HDL (cuando el suplemento es mayor a 300 mg/día), disminución en la actividad ferroxidasa sérica de la ceruloplasmina y depresión del sistema inmunológico (disminución de la estimulación de la fitohemaglutinina sobre los linfocitos). Dado que la cantidad de zinc necesaria para producir una intoxicación aguda es de 2 g por cada kg de peso y dicha cantidad, por lo general, produce el vómito, la intoxicación aguda rara vez se presenta. El consumo de otros minerales como el cobre, el calcio y el hierro, así como los alimentos muy ricos en fibras, limitan la absorción del zinc.

3.6. Déficit de zinc de causas nutricionales y genéticas

La deficiencia de zinc de origen nutricional se observa en comunidades o personas que ingieren poca cantidad de proteínas de origen animal (carnes de vacuno, ave, pescados, mariscos). A ello se suma la disminución de la biodisponibilidad del zinc en dietas con un alto contenido de fitatos, componente de diversos productos vegetales (especialmente, leguminosas y vegetales de hoja). Al igual que con otros nutrientes, las necesidades de zinc también están asociadas a los aportes de energía. Las dietas occidentales habituales tienen una relación Zn/energía en torno a 2 mg Zn/MJ. Las dietas deficientes en zinc están en torno a 0,7-1 mgZn/MJ. Aparte del bajo aporte de zinc y alto de fitatos entonces, una ingesta elevada de energía puede aumentar el riesgo de deficiencia de zinc.

Los efectos clínicos observados son: un compromiso tanto del crecimiento en estatura como del peso corporal (en las deficiencias más severas) y sólo del crecimiento en estatura en las deficiencias menos severas. Un metaanálisis de los estudios de suplementación con zinc y su efecto sobre el crecimiento que mostraba un impacto significativo

de la misma, lo que era más evidente aún si se analizaban solamente aquellos estudios con niños con retraso de talla < -2 desviaciones estándares para la edad. También hay evidencias parciales de que la deficiencia nutricional de zinc durante el embarazo puede aumentar el riesgo de prematurez y de bajo peso de nacimiento.

Hay claras evidencias de que la deficiencia nutricional de zinc favorece la adquisición de infecciones, especialmente digestivas, respiratorias y dérmicas. En el caso de las diarreas, puede aumentar tanto la frecuencia como la duración de las mismas, pero además con las pérdidas aumentadas intestinales de Zn se contribuye a aumentar la intensidad de la deficiencia de zinc. En países subdesarrollados con alto riesgo de deficiencia severa de zinc, ésta está asociada a mayor riesgo de mortalidad, debido a infecciones digestivas y respiratorias.

Hay dos enfermedades con base genética relacionada con la deficiencia de zinc. La primera es la acrodermatitis enteropática, enfermedad en que está alterada la absorción y el metabolismo de zinc. Sus manifestaciones son: alteraciones dérmicas, especialmente periorificiales (boca y ano), cuadros diarreicos a repetición y alteraciones inmunitarias. En la medida que mujeres con esta enfermedad han sobrevivido hasta la edad adulta, se ha observado que tienen un riesgo aumentado de procrear hijos con malformaciones congénitas.

La segunda condición asociada a deficiencia de zinc es la alteración que tienen algunas madres para concentrar el zinc en la leche materna, con lo cual sus hijos alimentados al pecho en forma exclusiva presentan signos de deficiencia nutricional de zinc.

Las personas que se adscriben a dietas ovolacto-vegetarianas son un grupo de riesgo de deficiencia de zinc. El zinc en estas dietas proviene principalmente de los cereales (26%), leguminosas, nueces y otras semillas (26%), leche y huevos (18%). Estas dietas tienen un alto contenido de fitatos, alterando además su absorción intestinal. Los niños con estos tipos de alimentación están en especial riesgo de deficiencias marginales de zinc.

3.7. Exceso de zinc de causas nutricionales y genéticas

Dada la distribución del zinc en alimentos y en otros productos potencialmente tóxicos, es poco frecuente el exceso de zinc. Se han comunicado casos aislados de ingestiones excesivas de zinc con signos clínicos digestivos (vómitos, diarrea).

Algunos estudios recientes de suplementación con zinc han mostrado que su aporte por encima de algunos órdenes de magnitud de las recomendaciones puede llevar a interferencia en la absorción de otros minerales, principalmente cobre y hierro. De hecho, el límite superior del rango aceptable de ingesta de zinc ha sido definido por su capacidad de inducir elevación de la enzima superoxidodismutasa y baja en los niveles de cobre. Esto ha sido documentado en pacientes con enfermedad de Wilson que reciben altas dosis de Zn (> 40 mg/día).

El exceso de zinc corporal puede no estar asociado a exceso de consumo dietético. Hay varios estudios que sugieren que un aporte aumentado de zinc medicamentoso puede favorecer el control de enfermedades como el resfriado común, por un efecto antiviral directo; sin embargo, un metaanálisis reciente concluía que no hay evidencias suficientes que avalen dicho efecto.

Se ha encontrado una acumulación excesiva de zinc a nivel hepático en algunas formas de colestasia progresiva severa, sugiriendo la participación de este exceso en la evolución de la enfermedad, unido a la acumulación esperable de cobre. Un estudio reciente efectuado en adultos ha mostrado que una hiperzincemia acentuada (77-200 μmol/l), asociada a una hipercalprotectinemia, parece ser una nueva alteración genético-metabólica, que se traduce en infecciones recurrentes, hépato-esplenomegalia, anemia y evidencia de inflamación sistémica. También está descrita la hiperzincemia familiar sin asociación a alteraciones clínicas.

3.8. Cómo cumplir con las recomendaciones dietéticas bajo condiciones de salud y enfermedad

En las primeras etapas de la edad pediátrica, la lactancia materna permite mantener una adecuada nutrición de zinc. Esto está demostrado por la ausencia de signos clínicos de deficiencia de zinc, así como por las concentraciones de zinc. La leche materna madura tiene un contenido en torno a los 2 mg/l, lo cual implica un consumo en torno a los 1,5 mg/día con unos 750 ml de leche materna; asumiendo una absorción cercana al 40%, hay alrededor de 600 μg

de zinc absorbido. Esta cantidad es suficiente para cubrir los 100 μg/kg/día requeridos metabólicamente durante el primer semestre de vida. Una lactancia materna exclusiva más allá de los 6 meses puede ser un factor de riesgo de deficiencia de zinc.

En edades posteriores, otras condiciones de riesgo para una deficiencia de zinc son: un bajo consumo de proteína dada por carnes, pescados y mariscos, unida a la alta ingestión de fitatos, situación observada frecuentemente en países subdesarrollados. En la misma línea, las dietas vegetarianas sin una adecuada orientación dietética son un factor de riesgo de deficiencia de zinc.

Algunas condiciones patológicas asociadas a ambientes con un consumo deficiente de zinc pueden aumentar el riesgo y la intensidad de la deficiencia de zinc. Aquí se incluyen los cuadros diarreicos de repetición o las diarreas prolongadas, la desnutrición calórico-proteica, algunas parasitosis, como la esquistosomiasis, la giardiasis o la amebiasis; los síndromes de malabsorción intestinal, las nefropatías crónicas, las dermatitis extensas. En estas situaciones, aparte del tratamiento de la enfermedad de base, una suplementación oral de zinc por encima de las necesidades habituales atenúa o mejora los signos clínicos de deficiencia.

4. Resumen

- El cobre y el zinc son elementos traza esenciales para el ser humano. Ambos elementos son indispensables para la actividad de numerosas enzimas y funciones corporales. Ambos poseen la función de regular la expresión de múltiples genes. El zinc, además, participa en la manutención de la integridad estructural de las proteínas.

- Las principales causas de las carencias de cobre y zinc son: depósitos reducidos al nacer (prematuridad,bajo peso de nacimiento),aportes inadecuados (deficiencia y/o baja disponibilidad de estos microminerales de la dieta), aumento de los requerimientos (crecimiento, embarazo) y pérdidas gastrointestinales aumentadas por diarrea aguda y/o crónica. Las modificaciones y/o diversificaciones de la dieta, la fortificación de alimentos y la suplementación son las principales estrategias utilizadas para prevenir las deficiencias de dichos micronutrientes.

5. Bibliografía

Díaz-Gómez NM, Domenech E, Barroso F, Castells S, Cortabarria C, Jiménez A. The effect of zinc supplementation on linear growth, body composition, and growth factors in preterm infants. Pediatrics 2003; 111: 1002-9.
Este artículo demuestra la importancia de suministrar zinc, durante el crecimiento rápido, a los niños prematuros.

Institute of Medicine (IOM), Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academy Press. Washington, DC, 2002.
En este libro se proporcionan las bases para establecer los requerimientos de cobre y zinc, así como las ingestas nutricionales recomendadas.

Lonnerdal B, Uauy R (eds.). Genetic and Environmental Determinants of Copper Metabolism. Supplement to the American Journal of Clinical Nutrition, 1998; Volumen 67, número 5.
Este suplemento revisa extensamente el metabolismo, nutrición, deficiencia y toxicidad del cobre.

Peña MO, Lee J, Thiele DJ. A Delicate Balance: Homeostatic Control of Copper Uptake and Distribution. J of Nutr 1999; 129: 1251-60.
Excelente revisión del metabolismo celular del cobre.

Ralph A, McArdle H. Copper Metabolism and Requirements in the Pregnant Mother, Her Fetus, and Children. International Copper Association, Ltd. New York, NY, 2001.
Este libro es una excelente actualización del metabolismo de cobre y su nutrición en la embarazada, el feto y el niño.

Rivera JA, Hotz C, González-Cossio T, Neufeld L, García-Guerra A. The effect of micronutrient deficiencies on child growth: a review of results from community-based supplementation trials. J Nutr 2003; 133 (11 Suppl 2): 4010S-20S.
Este artículo trata de la importancia que posee el zinc durante el crecimiento en los niños. Se centra en los países desarrollados.

Uauy R, Olivares M (eds.). Copper Nutrition in Humans: Essentiality and Toxicity. Supplement to the American Journal of Clinical Nutrition, 1996; Volumen 63, número 5.
Este suplemento analiza detalladamente aspectos relacionados con la esencialidad, metabolismo y exceso de cobre.

WHO/FAO/IAEA. Trace Elements in Human Nutrition and Health. World Health Organization. Geneva, 1996.
Este libro proporciona las ingestas nutricionales recomendadas de cobre y zinc según la Organización Mundial de la Salud.

6. Enlaces web

- www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc200.htm
- books.nap.edu/books/0309072794/html/index.html
- lpi.oregonstate.edu/infocenter/minerals/copper
- latinut.net/micro

1.30. Selenio, manganeso, cromo, molibdeno, yodo y otros oligoelementos minoritarios

Miguel Navarro Alarcón ■ Fernando Gil Hernández ■ Ángel Gil Hernández

Capítulo 1.30.

Selenio, manganeso, cromo, molibdeno, yodo y otros oligoelementos minoritarios

1. Introducción

2. Selenio (Se)
- 2.1. Papel fisiológico
- 2.2. Fuentes dietéticas
- 2.3. Cinética y metabolismo
- 2.4. Ingestas y requerimientos
- 2.5. Deficiencia y toxicidad

3. Manganeso (Mn)
- 3.1. Papel fisiológico
- 3.2. Fuentes dietéticas
- 3.3. Cinética y metabolismo
- 3.4. Ingestas y requerimientos
- 3.5. Deficiencia y toxicidad

4. Cromo (Cr)
- 4.1. Papel fisiológico
- 4.2. Fuentes dietéticas
- 4.3. Cinética y metabolismo
- 4.4. Ingestas y requerimientos
- 4.5. Deficiencia y toxicidad

5. Molibdeno (Mo)
- 5.1. Papel fisiológico
- 5.2. Fuentes dietéticas
- 5.3. Cinética y metabolismo
- 5.4. Ingestas y requerimientos
- 5.5. Deficiencia y toxicidad

6. Yodo (I)
- 6.1. Papel fisiológico
- 6.2. Fuentes dietéticas
- 6.3. Cinética y metabolismo
- 6.4. Ingestas y requerimientos
- 6.5. Deficiencia y toxicidad

7. Otros oligoelementos probablemente esenciales
7.1. Litio (Li)
7.2. Silicio (Si)
7.3. Vanadio (V)
7.4. Níquel (Ni)
7.5. Boro (B)

8. Resumen

9. Bibliografía

10. Enlaces web

Objetivos

- Estudiar el concepto de oligoelemento o elemento traza.
- Diferenciar entre los oligoelementos esenciales y los que presentan potencialidad esencial para el hombre.
- Conocer las principales funciones biológicas de los oligoelementos.
- Indicar las fuentes alimentarias más importantes de cada uno de los oligoelementos.
- Describir la cinética y rutas metabólicas principales que los oligoelementos siguen en el organismo humano.
- Aprender la definición y los factores que afectan a la biodisponibilidad de los oligoelementos.
- Comprender las interacciones entre los minerales traza.
- Indicar las ingestas y requerimientos de los oligoelementos en la alimentación humana.
- Describir la sintomatología y patologías asociadas a un consumo insuficiente (deficiencia) y excesivo (toxicidad) de los oligoelementos estudiados.
- Enumerar los rangos de seguridad de ingesta de los oligoelementos.

1. Introducción

Durante los últimos años, numerosos descubrimientos científicos y la utilización de técnicas analíticas de alta resolución (espectroscopías de absorción atómica electrotérmica y de emisión atómica) han hecho aumentar considerablemente nuestro conocimiento sobre la función de los oligoelementos, o elementos minerales traza, en la salud humana. Actualmente, está bien establecido que los oligoelementos pueden ser sustancias limitantes del crecimiento y del desarrollo, no sólo a causa de deficiencias ambientales, sino también por la ingesta de dietas desequilibradas que en el pasado fueron aceptadas como adecuadas. Tales desequilibrios se han demostrado en pacientes mantenidos exclusivamente en nutrición parenteral, en niños durante el desarrollo de procesos de desnutrición y en niños y adolescentes que consumían dietas regionalmente aceptadas con baja biodisponibilidad de elementos traza. A veces los desequilibrios se han creado al suministrar a poblaciones subdesarrolladas alimentos ricos en energía y proteínas con cantidades inadecuadas de oligoelementos.

Desde la publicación en 1973 del documento n.° 532 de la Organización Mundial de la Salud sobre "Elementos Traza en la Nutrición Humana" las autoridades de salud pública han tomado conciencia de la extensión de la deficiencia de yodo (I) en más de 100 países y de sus consecuencias patológicas que anteriormente habían sido infraestimadas. En 1996, la Organización Mundial de la Salud ha publicado un nuevo documento en el que se da cuenta de los avances realizados en los últimos 20 años en el campo de los oligoelementos, tanto en lo que se refiere a los requerimientos y rangos de seguridad de ingesta como a la biodisponibilidad e interacciones de los elementos traza y su papel fisiológico en la salud y nutrición humana.

Actualmente, se consideran oligoelementos o elementos traza aquellos que desempeñan un papel fisiológico fundamental o presentan toxicidad potencial cuando se encuentran en cantidades inferiores a 250 μg/g en los tejidos corporales, alimentos o agua de bebida. No todos los elementos traza tienen la misma importancia en términos de salud pública. Para ciertos elementos como el zinc (Zn) y el cobre (Cu), comentados en el Capítulo 1.29, el selenio (Se), el cromo (Cr), el molibdeno (Mo) y el I, se conocen tanto los efectos de la deficiencia como de la sobreexposición. Para otros, como el manganeso (Mn), se sabe que desempeña varias funciones biológicas como cofactor enzimático; sin embargo, tanto las ingestas bajas como las elevadas no causan problemas sustanciales ni en la población infantil ni en la adulta. Por otra parte, en los últimos años se discuten las evidencias de algunos elementos minerales potencialmente esenciales. En el presente Capítulo se revisa el papel fisiológico, las fuentes alimenticias, los aportes recomendados y las causas de carencia y de toxicidad de los oligoelementos considerados esenciales para el hombre: Se, Mn, Cr, Mo, y I **(Tablas 1 y 2)**. Además, se consideran brevemente aquellos oligoelementos que podrían ser esenciales bajo determinadas circunstancias: litio, silicio, vanadio, níquel y boro (Li, Si, V, Ni y B) **(Tablas 2 y 3)**. Otros oligoelementos esenciales como Co, F, Fe, Cu y Zn son objeto de estudio detallado en otros capítulos de este mismo Tratado (*ver Capítulos 1.27, 1.28 y 1.29, respectivamente*).

Tabla 1. PAPEL FISIOLÓGICO, FUENTES DIETÉTICAS, CINÉTICA Y METABOLISMO, DEFICIENCIA Y TOXICIDAD DE OLIGOELEMENTOS ESENCIALES (Se, Mn y Cr)

	Se	Mn	Cr
Papel fisiológico	• Antioxidante por glutatión peroxidasa • Regulación de función tiroidea por tironina-5'-deyodasas • Contrarresta metales pesados contaminantes • Sistema de ahorro de vitamina C	• Antioxidante por superóxido dismutasa • Regulador de metabolismo de macronutrientes al ser cofactor de piruvato carboxilasa, arginasa, fosfoenol piruvato carboxikinasa, acetil-CoA carboxilasa y tirosina sulfotransferasa • Formación de hueso	• Constituyente del GTF, por lo que participa en el metabolismo de la glucosa • Beneficioso en metabolismo lipídico (↓ colesterol total y triglicéridos)
Fuentes dietéticas	• Alimentos proteicos: productos pesqueros, carne y vísceras, legumbres, frutos secos y cereales • Contenido en plantas: depende de nivel en suelo	• Alimentos de origen vegetal: frutos secos, cereales, legumbres y granos enteros. También té y café	• Pimienta negra, levadura de cerveza, ostiones, carne e hígado, setas, uvas, patatas, cerveza, té, café e infusiones • El refinado: ↓ Cr • Los alimentos ácidos en envases de acero inoxidable ↑ contenido en Cr
Cinética y metabolismo	• Absorción (50-100%) • Biodisponibilidad de las formas orgánicas es mayor (selenocisteína, selenometionina, etc.) • Excreción en orina (vía principal), heces y aire expirado	• Absorción muy baja $\simeq$ 6% (1-16%) • Absorción y biodisponibilidad inhibidas por Fe no hemo, fibra y ác. fítico • Transporte unido a α_2-microglobulina o albúmina; transferrina y transmanganina • Excreción en heces (99%)	• Absorción intestinal < 5% (0,5-2%). El Cr^{6+} se absorbe mucho más que Cr^{3+} • Transporte por transferrina y albúmina • Biodisponibilidad ↑ con oxalato, ascorbato y en deficienia en Fe • Excreción urinaria
Ingestas dietéticas	• < 10-220 μg/día (normalmente entre 50 y 200 μg/día)	• 0,52-10,8 mg/día	• < 50-200 μg/día
Deficiencia	• Enfermedad de Keshan (cardiomiopatía endémica) • Enfermedad de Kashin-Beck (osteoartropatía endémica) • Pacientes en NPT • Alcohólicos	• Alteración de crecimiento y capacidad reproductiva • Anormalidades en esqueleto • Mayor frecuencia en infantes por baja concentración de Mn presente en leche humana y niveles variables presentes en fórmulas infantiles	• Intolerancia a la glucosa • Alteración del metabolismo lipídico (↑ colesterol sanguíneo)
Toxicidad	• Ingestas > 700 μg/día (potencialmente peligroso) • Pérdida de pelo y cambios en la morfología de las uñas de los dedos	• No tóxico por vía oral • Alteraciones neurológicas en trabajadores ↑↑ exposición • Precaución en vegetarianos estrictos por problemas de ↑↑ exposición	• Poco tóxico por vía oral debido a ↓ absorción de Cr^{3+} (forma predominante en alimentos) • Fallo renal crónico • Por Cr^{6+} en industrias (dermatosis y cáncer de pulmón)

GTF: factor de tolerancia a la glucosa; NPT: nutrición parenteral total.

Tabla 2. PAPEL FISIOLÓGICO, FUENTES DIETÉTICAS, CINÉTICA Y METABOLISMO, DEFICIENCIA Y TOXICIDAD DE OLIGOELEMENTOS ESENCIALES (Mo e I) Y POTENCIALMENTE ESENCIALES (B)

	Mo	I	B
Papel fisiológico	• Cofactor de enzimas (aldehído oxidasa, sulfito oxidasa, xantina-oxidasa deshidrogenasa) del metabolismo de pirimidinas, purinas, pteridinas y aminoácidos azufrados	• Síntesis de hormonas tiroideas • Regulación del metabolismo energético y producción de calor • Control del crecimiento y desarrollo	• Forma complejos con sustratos con grupos hidroxilos adyacentes y en posición *-cis* • Función y estabilidad de membrana celular • Acción en hueso ≃ a estrógenos • Acción antibiótica, por ésteres de B de origen microbiano
Fuentes dietéticas	• Leche y productos lácteos, legumbres, hígado y riñón, cereales y derivados, y nueces • Contenido en plantas: depende del nivel en suelo y agua de la región	• Alimentos marinos (pescados, mariscos y algas), alimentos procesados con yodóforos y sal yodada	• Alimentos de origen vegetal: legumbres, frutas no cítricas, verduras, frutos secos, patata y aguacate • Bebidas fermentadas de origen vegetal: vino, cerveza y sidra
Cinética y metabolismo	• Absorción: 25-80% • ↓ Absorción por interacción con Cu • Transporte por α_2-microglobulina • Excreción urinaria y en menor proporción por bilis	• Absorción rápida y casi completa por intestino • Transporte sanguíneo en forma libre (I^-) y unido a proteínas • Excreción urinaria	• Absorción > 90% por difusión pasiva • Transporte por metalotioneína • Excreción urinaria, que además regula su homeostasis
Ingestas dietéticas	• 50-350 μg/día (normalmente, 50-100 μg/día)	• Normalmente 100-150 μg/día	• Entre 0,5 y 3,5 mg/día
Deficiencia	• Difícil: xantinuria • Alteraciones neurológicas y metabolismo • La deficiencia de Mo coexiste con la de Se en enfermedad de Keshan	• Bocio endémico o simple • Deficiencia mental y cretinismo endémico • ↑ Número de abortos y malformaciones congénitas	• Alteraciones en metabolismo del Ca, en la función cerebral y en el metabolismo energético
Toxicidad	• Poco tóxico • Dosis orales 10-15 mg/día dan síndrome ≃ a gota • Alteraciones esqueléticas • Unidas a deficiencia Cu concomitante, porque ↑ la absorción de Mo	• Ingesta ≥ 2 mg/día (potencialmente peligrosa) • Hipertiroidismo • Bocio por consumo excesivo de I • Gota nodular tóxica	• Dosis fatal de ácido bórico (15-20 g) • Baja por vía oral • Intoxicación aguda: síntomas gastrointestinales (vómitos, diarreas y náuseas), dermatitis, letargo, convulsiones y anormalidades en EEG • Toxicidad crónica: pérdida de peso, ↓ apetencia sexual y descenso de la eficacia reproductiva

EEG: electroencefalograma.

Tabla 3. PAPEL FISIOLÓGICO, FUENTES DIETÉTICAS, CINÉTICA Y METABOLISMO, DEFICIENCIA Y TOXICIDAD DE OLIGOELEMENTOS POTENCIALMENTE ESENCIALES (Li, Si, V y Ni)

	Li	Si	V	Ni
Papel fisiológico	• Tratamiento de depresión endógena, manía y psicosis maniaco-depresiva • Enzimas relacionadas con Li (isocitrato y malato deshidrogenasas, aldolasa, MAO y creatín kinasa)	• Estructural en mucopolisacáridos, elastina y colágeno • Necesario en actividad prolilhidroxilasa • Biosíntesis de cartílago y hueso	• Función sólo descrita en organismos inferiores • Regulación de NaK-ATPasa, fosforibosiltransferasa, adenilciclasa y proteín kinasas • Interviene en la peroxidasa tiroidea	• Componente de metaloenzimas (deshidrogenasas de varios tipos, hidrogenasas, reductasas y aminotransferasas) • Importante en metabolismo intermediario • ↑ Absorción Fe^{3+}
Fuentes dietéticas	• Alimentos de origen animal: leches, huevos, queso, carnes y pescado • También tomates, champiñones, pepinos, remolacha, col, espinacas, cereales integrales, pimentón y té negro	• Granos no refinados, cereales (avena, trigo o maíz), raíces vegetales • La fuente más concentrada es la cerveza	• Espinacas, setas, moluscos, perejil, pimienta negra, semillas de eneldo y ciertos alimentos preparados	• Abunda en alimentos vegetales, chocolate, especias, frutos secos, legumbres, edulcorantes, golosinas y estimulantes
Cinética y metabolismo	• Absorción gastrointestinal (95-100%) por vía paracelular • Distribución sin unión a proteínas plasmáticas • Pasa barrera placentaria • Excreción renal dependiente de ingesta de Na y K; algo por vía biliar	• Absorción depende de forma química en dieta: el Si de alimentos (50%) y silicatos insolubles (1-3%) • Distribución sin unión a proteínas plasmáticas, como ácido silícico monomérico no disociado • Excreción en heces y orina	• Absorción gastrointestinal muy baja (1-5%) • Absorción vanadato (por sistemas de transporte de aniones) es mayor a la del vanadilo (por sistema de transporte de Fe^{3+}) • Excreción por heces y el V absorbido por la orina	• Absorción (20-25%) se estimula por déficit de Fe • Biodisponibilidad entre 1 y 10% • Distribución por unión a albúmina y niquelplasmina, a ciertos aminoácidos y a moléculas ultrafiltrables • Excreción fecal y urinaria
Ingestas dietéticas	• Muy variables según localización geográfica (18-3.420 μg/día); normalmente entre 200 y 600 μg/día	• 20-50 mg/día	• 10-30 μg/día	• Muy variables dependiendo de localización geográfica (67-600 μg/día)

MAO: monoaminooxidasa.

Tabla 3. PAPEL FISIOLÓGICO, FUENTES DIETÉTICAS, CINÉTICA Y METABOLISMO, DEFICIENCIA Y TOXICIDAD DE OLIGOELEMENTOS POTENCIALMENTE ESENCIALES (Li, Si, V y Ni) (Cont.)

	Li	Si	V	Ni
Deficiencia	• Alteraciones enzimáticas y reproductivas, ↑ tasa de abortos y ↑ mortalidad posparto	• Alteraciones del metabolismo del tejido conectivo y hueso	• ↑ Tasa abortos, ↑ creatinina, ↑ β-lipoproteínas y ↓ glucosa • Alteraciones orgánicas con deformidades en esqueleto	• Retraso en crecimiento • Hematopoyesis deprimida
Toxicidad	• Tóxico (niveles 13,9 mg/l en plasma) • Facilitada por ↓ ingesta de Na y agua, y por regímenes de adelgazamiento en pacientes tratados con Li • Trastornos gastrointestinales (diarrea, náuseas y vómitos), temblor, vértigo, anorexia y sed	• Atóxico por vía oral • Por vía respiratoria produce silicosis	• Relativamente tóxico (10-20 mg/día) • Síntomas: lengua verdosa, calambres y diarrea • Neurotóxico, endoteliotóxico-hemorrágico y retraso en crecimiento	• Dietas ≥ 250 μg de Ni/g • Alteraciones gastrointestinales, neurológicas, pulmonares y reproductivas; ↓ de crecimiento, problemas reproductivos y ↓ hematopoyesis • ↑ Riesgo de cáncer de pulmón y nariz • Dermatitis por contacto

2. Selenio (Se)

2.1. Papel fisiológico

El Se es un oligoelemento cuya esencialidad en mamíferos no fue descubierta hasta 1957, debido a su función solapada con la vitamina E. En nutrición humana, no se observaron signos asociados al carácter esencial del Se hasta 1979. Ese año, un grupo de investigación, descubrió la relación existente entre las bajas concentraciones de este elemento en el área geográfica de Keshan (China) y una patología endémica denominada "enfermedad de Keshan" (cardiomiopatía congénita con insuficiencia miocárdica, que afecta a niños de 2 a 10 años y mujeres premenopáusicas).

El Se aparece asociado a varias metaloproteínas, algunas de las cuales tienen una función biológica esencial. El Se forma parte de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) **(Tabla 1)**, una enzima fundamental en el sistema de defensa antioxidante celular, ya que descompone los hidroperóxidos lipídicos y el peróxido de hidrógeno en presencia de glutatión reducido **(Figura 1)**. La deficiencia en Se disminuye la actividad de las cuatro glutatión peroxidasas, aunque el efecto se modifica según el tipo de enzima y el tejido. De éstas, son las actividades de las glutatión peroxidasas del plasma e hígado las más dependientes del aporte de Se, por lo que se emplean como índice de evaluación del estado nutricional en este elemento.

En relación con esta función antioxidante, se ha observado que, al aumentar los sustratos oxidables, como el colesterol total y los triglicéridos sanguíneos, aumentan también significativamente los niveles séricos de este elemento, tanto en individuos con cardiopatías como en ancianos institucionalizados. Este resultado establece el mecanismo de protección por una elevación del estado nutricional del Se frente al riesgo incrementado de estrés oxidativo.

Por otro lado, el Se también protege frente a la toxicidad de otros metales pesados como es el caso del mercurio (Hg), del plomo (Pb), del cadmio (Cd) y de la plata (Ag).

El Se forma también parte de la estructura de las tironina-5'-deyodasas implicadas en la síntesis de

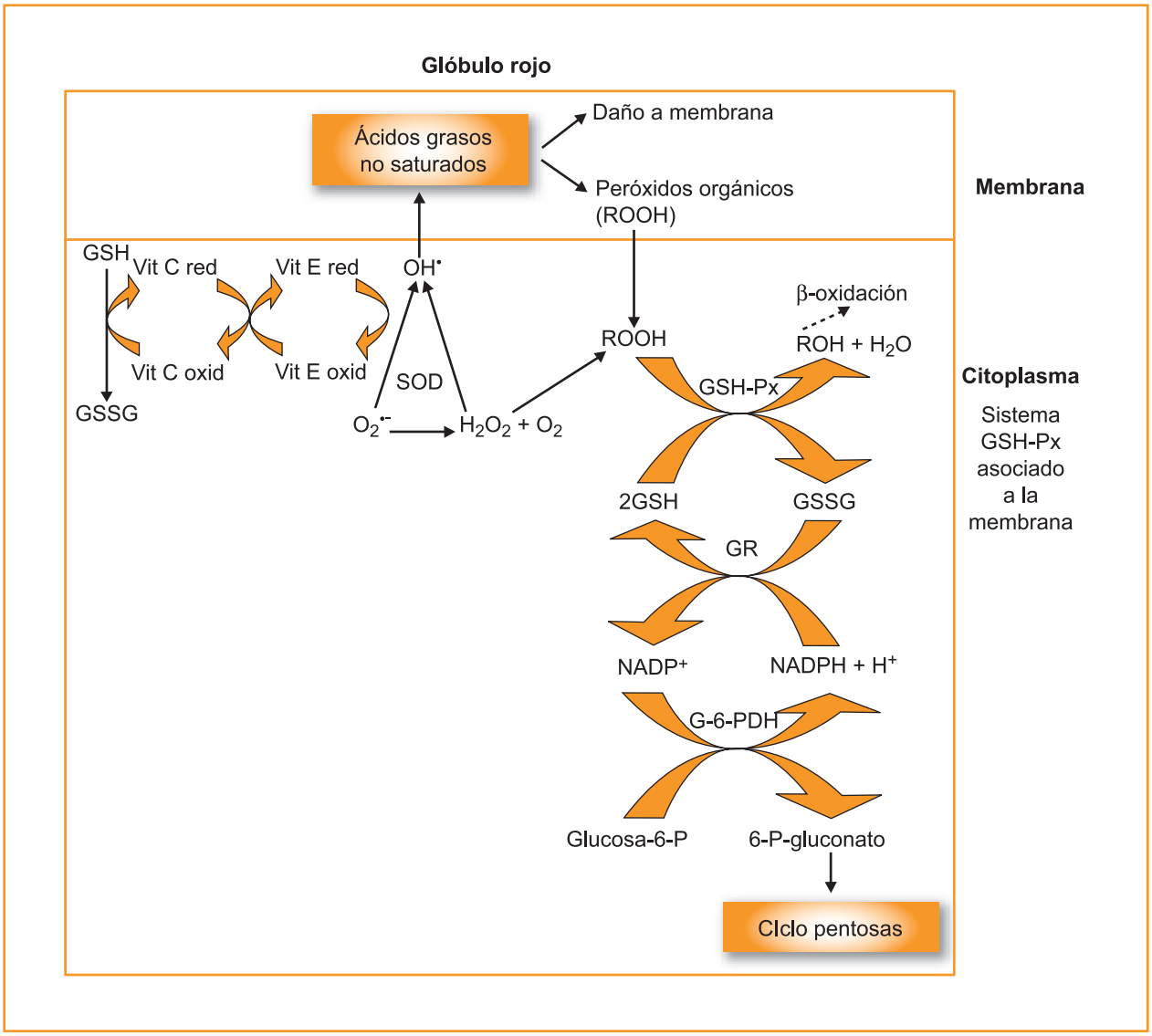


Figura 1. *Acción antioxidante del Se como cofactor de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) en el glóbulo rojo. GSSG: glutatión oxidado; GSH: glutatión reducido; GR: glutatión reductasa; G-6-PDH: glucosa-6-P deshidrogenasa; SOD: superóxido dismutasa.*

las hormonas tiroideas sulfatadas. Existen tres tipos de deyodasas denominadas tipo I, II y III; la tipo I cataliza la conversión de T_4 a T_3 en la glándula tiroidea, hígado y riñón, y es responsable de la mayor parte de la T_3 en la corriente sanguínea; el papel fisiológico de esta enzima se comprende, ya que es inhibida por propiltiouracilo, un fármaco que produce deficiencia de hormona tiroidea, sin inhibir las deyodasas tipo II y III.

La deyodasa tipo II actúa también en la posición 5' del anillo fenólico y cataliza la conversión de T_4 en T_4; se encuentra en la glándula tiroidea, la hipófisis, el sistema nervioso central y el músculo esquelético. Cuando el tiroides es estimulado, esta enzima adquiere importancia en la formación de T_3; su función fisiológica es captar T_4 de la corriente sanguínea y convertirla en T_3 en el tejido diana. Esta enzima es única en el sentido de que tiene dos átomos de Se en lugar de uno como las otras metaloenzimas que contienen Se. La deyodasa tipo III sólo actúa sobre el anillo tirosilo y cataliza la conversión de T_4 a T_3 inversa y de T_3 a T_2. El papel fisiológico de esta enzima es proteger al cerebro de posibles efectos tóxicos de un exceso de hormona

T_3. La placenta es un órgano único porque contiene deyodasas tipo II y III.

Por otra parte, el Se forma parte de las selenoproteínas P y W de función actualmente desconocida. El Se se incorpora a las metaloenzimas celulares que lo contienen durante el proceso de traducción en forma de selenocisteína **(Figura 2)**. Este aminoácido se forma a partir de seril-tRNA, gracias a la intervención de la enzima selenocisteína sintetasa que sustituye el átomo de azufre de la cisteína por Se, en virtud de la similitud existente entre el radio iónico de ambos. El codón para la selenocisteína es UGA, que usualmente es un codón de parada en la biosíntesis de la cadena polipeptídica. Sin embargo, los mRNA que codifican para las metaloenzimas que contienen Se presenta una secuencia específica de nucleótidos corriente abajo de la zona que se traduce; esta zona forma a modo de un tallo seguido de una horquilla y condiciona que frente al codón UGA se aparee la molécula de selenocisteinil-tRNA, lo cual permite que continúe el proceso de traducción y se incorpore la selenocisteína a la molécula proteica.

Por otro lado, la forma de selenometionina se incorpora en las proteínas vegetales que son usadas por los animales en la síntesis de sus propias proteínas, lo que facilita su acumulación.

Las principales de vías de excreción del Se son la orina, las heces (a partir de las secreciones biliares e intestinales junto con el Se dietético no absorbido) y el aire expirado como dimetil selenuro.

2.2. Fuentes dietéticas

Dada la capacidad comentada del Se de sustituir al azufre en los aminoácidos azufrados (metionia, cisteína o cistationina), son los alimentos de alto contenido en proteínas las fuentes principales de Se en la dieta. Por tanto, los alimentos de origen animal como el pescado y mariscos, la carne y las vísceras, y los de origen vegetal como las legumbres, los frutos secos y los cereales, tienen un alto contenido en Se. A pesar de esto, los frutos secos y las legumbres no son fuentes importantes de Se en la dieta por el bajo consumo que en general se hace de ellos en la alimentación general de la población. Por el contrario, la mayoría de los vegetales restantes y de las frutas presentan contenidos bajos. Los valores típicos para el hígado, el riñón y los mariscos son 0,4-1,5 mg/kg; para las carnes, 0,1-0,4 mg/kg; para los cereales, 0,1-0,8 mg/kg, y para las frutas y vegetales, < 0,1 mg/kg.

Existen diversos factores que pueden influir en el contenido de Se en los alimentos, tales como su tratamiento tecnológico, el cocinado que puede originar una pérdida de hasta el 40% del Se presente por volatilización, o el contenido en Se existente en los suelos de cultivo, por lo cual su concentración es dependiente de la localización geográfica.

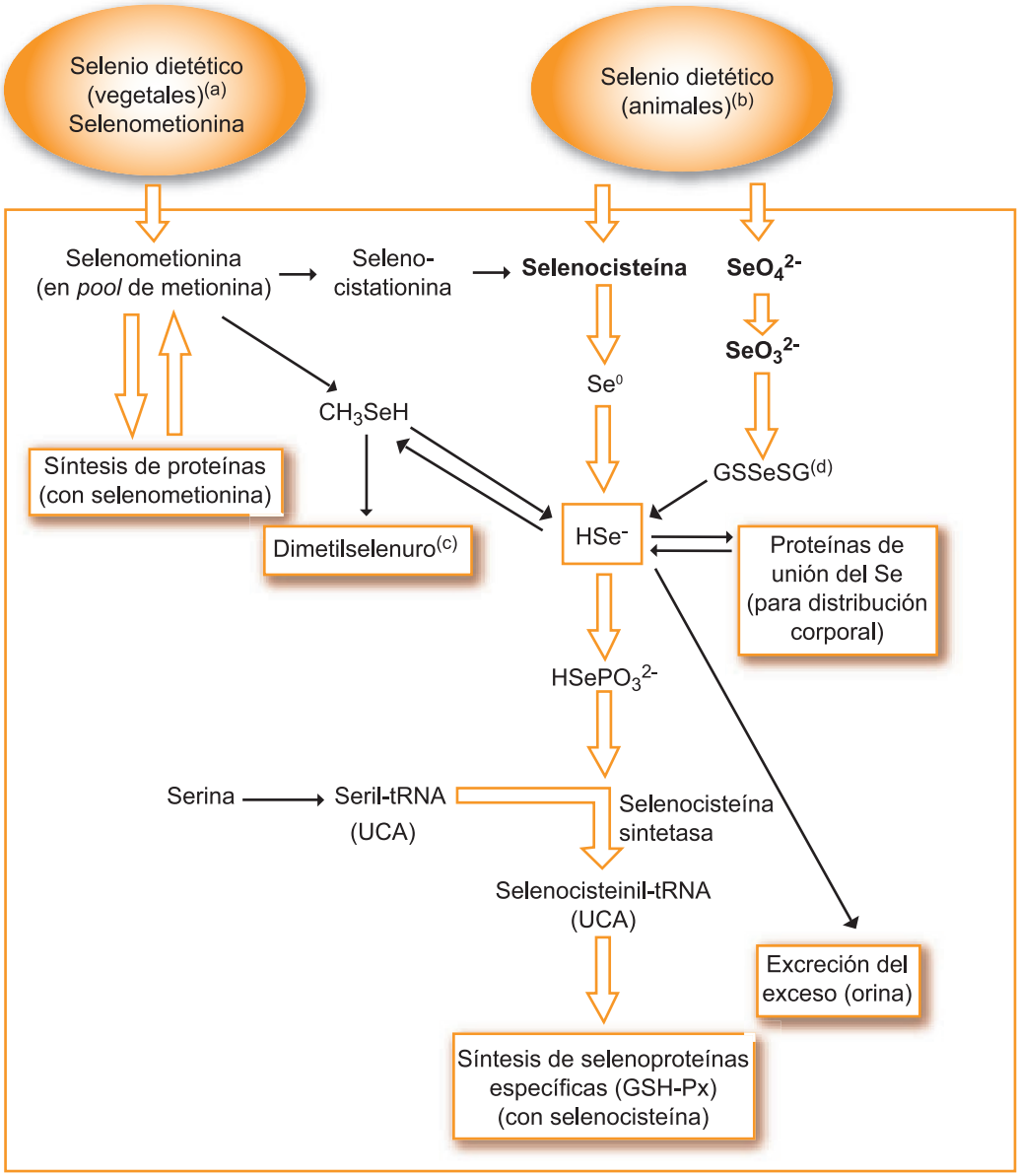
2.3. Cinética y metabolismo

Los compuestos de Se son generalmente muy bien absorbidos por el ser humano, y la absorción no parece estar controlada por ningún mecanismo homeostático. Así, la absorción del selenito es del orden del 80%, mientras que la del selenio, el selenato y la selenometionina es mayor del 90%. Por lo general, la absorción del Se oscila entre el 50% y el 100%, no viéndose afectada por el estado nutricional en este elemento.

Aunque la determinación de la cantidad total de Se en la dieta tiene su importancia, mayor interés presenta conocer la biodisponibilidad o fracción absorbida de este elemento y empleada por el organismo al ser transformada en una forma biológicamente activa. La biodisponibilidad en Se puede determinarse mediante la medida de la actividad de la glutatión peroxidasa plaquetaria y/o de los eritrocitos. La biodisponibilidad del Se en algunos alimentos como la carne, el pescado, los cereales y los frutos secos es en todo caso muy elevada.

La biodisponibilidad del Se a partir de los alimentos va a estar determinada por las diferentes especies físico-químicas presentes en los alimentos, que a su vez van a depender del pH y del potencial redox, de la existencia de algunos componentes orgánicos e inorgánicos capaces de formar complejos con el Se, y del estado de oxidación del elemento. La absorción del Se^{6+} es superior a la del Se^{4+}.

Las formas orgánicas del Se, como la selenometionina o la seleniocisteína, aumentan en mayor medida la actividad enzimática que el selenito o el selenato, lo que indica que estas formas de Se siguen rutas diferentes en el organismo **(Figura 2)**. Al ser usado este elemento bajo la forma de selenometionina (forma principal presente en las plantas), puede



(a) Otras formas presentes son, en el maíz, la selenocistina, y en plantas acumuladoras de Se, la selenocistationina, selenohomocisteína y metilselenocisteína.

(b) Las formas del Se en los alimentos de origen animal son la selenocisteína, SeO_4^{2-} y SeO_3^{2-}.

(c) Compuesto de Se eliminado en el aire expirado en sobreexposición a este elemento que origina un aliento típico a ajo.

(d) GSSeSG: selenildiglutatión.

Figura 2. *Principales formas del Se en la dieta y el organismo humano tras su metabolización.*

almacenarse en la reserva de metionina, para su empleo en la síntesis directa de selenoproteínas, o bien catabolizarse liberando el Se que pasa al *pool* metabólico del Se **(Figura 2)**. De otra parte, la selenocisteína (forma principal existente en los animales) no se almacena como tal, sino que se cataboliza directamente, y el Se entra en el *pool* de este elemento, para su posterior utilización directa en la síntesis de la glutatión peroxidasa. Las formas inorgánicas (selenito y selenato) van directamente al *pool* en Se, desde el que, independientemente de su origen, el Se es empleado en la síntesis de selenoproteínas específicas, siendo el exceso excretado.

Se conoce muy poco acerca del transporte del Se. La selenoproteína P y una forma glicosilada de la glutatión peroxidasa están presentes en el plasma, pero ambas contienen Se en forma de selenocisteína, por lo que no parece que intervengan directamente en el transporte de este elemento. El Se extracelular asociado a glutatión, cisteína y grupos tioles de algunas proteínas podría servir en la función de distribución corporal.

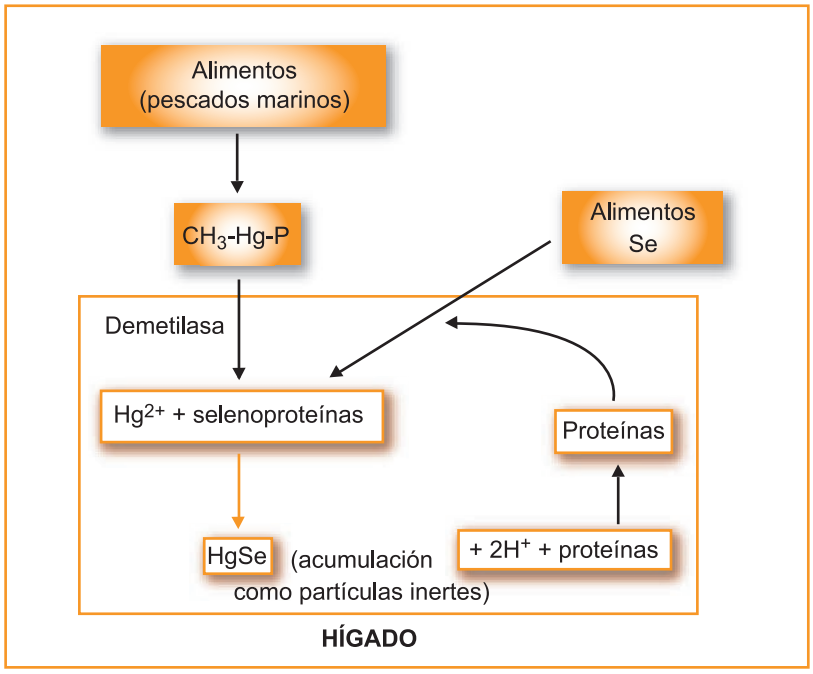


Figura 3. *Mecanismo de neutralización hepática por el Se de la toxicidad del metilmercurio.*

Los niveles de Se plasmático responden rápidamente a la ingesta del metal. En áreas de EE UU con suelos de contenido medio o bajo en Se, los niveles plasmáticos oscilan de 118,4 a 134,2 μg/l y descienden hasta 49,7 μg/l en áreas de Nueva Zelanda con suelos muy pobres en este elemento. En España se han determinado niveles séricos medios de Se de 74,9 μg/l, que han oscilado entre 30,2 y 125,0 μg/l en mujeres, y entre 37,5 y 175 μg/l en hombres, para suelos con un contenido bajo en este elemento (0,212 mg/kg).

El hígado y el riñón manifiestan una elevada capacidad de acumulación de Se. Estas concentraciones tan altas determinadas en el hígado se han relacionado con su capacidad de contrarrestar la toxicidad del metilmercurio, que constituye la forma más toxica del Hg en el organismo humano y que debido a su carácter liposoluble se concentra principalmente en el hígado. El Se concretamente facilita la conversión del metil-Hg hasta seleniuro mercúrico (HgSe), sustancia que ya no tiene carácter tóxico y que se acumula en forma de partículas inertes **(Figura 3)**.

Bajo condiciones fisiológicas la excreción urinaria es la principal forma de regulación del Se corporal, aunque elevadas ingestas pueden conducir a la exhalación de las formas volátiles de este oligoelemento, fundamentalmente la de dimetilselenuro **(Figura 2)**, que presenta un olor característico a ajo. La vía intestinal constituye una vía secundaria de excreción. Cuando el estado nutricional en Se es bajo, como sucede en algunas patologías, se ha comprobado que el organismo regula homeostáticamente este elemento limitando su eliminación urinaria.

2.4. Ingestas y requerimientos

La cantidad de Se ingerido depende en gran medida de los hábitos alimentarios de cada país o región y del origen geográfico de los alimentos. Por otra parte, hay una gran diferencia en las ingestas diarias entre individuos del mismo sexo y edad. El rango de ingestas es muy amplio y oscila entre < 10 μg de Se/día, en áreas deficientes en este elemento, y 5.000 μg de Se/día en aquellas en las que existe

una selenosis endémica, como se ha observado en ciertas zonas de China y Argentina. La ingesta media estimada de Se, basada en el análisis de los alimentos consumidos durante 4 semanas, oscila entre 70 y 90 μg/día para las mujeres y los hombres, respectivamente. No obstante, la ingesta media se sitúa entre < 10 y 220 μg/día.

En España se han encontrado ingestas que han oscilado entre 72,6 y 98 μg de Se/día en Granada y Galicia, respectivamente. Además, se ha observado cómo son los productos pesqueros y cárnicos, y sobre todo el pan, los grupos de alimentos que más contribuyen a la ingesta de Se en España. Este resultado se relaciona con el alto consumo y elevada concentración presentes de este elemento en estos alimentos. Por lo tanto, los individuos vegetarianos y lactovegetarianos son proclives a tener unas ingestas bajas en Se, inductoras de un estado nutricional comprometido en este elemento.

Los estudios basados en animales, extrapolados al hombre, inicialmente arrojaron un valor de ingesta recomendada de Se en un rango de 50-200 μg/día. Posteriormente se ha demostrado que una ingesta de 40 μg/día en los adultos es suficiente para saturar la glutatión peroxidasa, lo que ha permitido el establecimiento de las ingestas dietéticas de referencia (DRI: ***D**ietary **R**eference **I**ntakes*) para este elemento. Por este motivo, las ingestas dietéticas recomendadas (RDA: ***R**ecommended **D**ietary **A**llowances*) se han visto reducidas en adultos sanos a 55 μg/día **(Tabla 4)**.

Los niveles máximos de ingesta sin aparición de efectos adversos (UL: ***U**pper **L**imits*) (400 μg/día) **(Tabla 4)** se sitúan cercanos al valor más elevado del intervalo de ingesta recomendada, por lo que este elemento ha de interpretarse con precaución.

2.5. Deficiencia y toxicidad

La enfermedad de Keshan es una cardiomiopatía endémica de ciertas áreas de China que afecta a los niños y a las mujeres en periodo fértil y ocurre por deficiencia de Se **(Tabla 1)**. Las aves de corral que crecen en las mismas áreas a menudo desarrollan una enfermedad muscular por deficiencia simultánea de vitamina E y de Se, por lo que desde hace mucho tiempo se sospechó que la enfermedad humana estaba ligada a alguna deficiencia en el agua o en el suelo. Efectivamente, el suelo es deficiente en este metal y reduce el flujo del elemento a través de la cadena trófica.

La mayor incidencia de enfermedad de Keshan se asocia a bajo contenido de Se en muestras de sangre humana, pelo y otros tejidos, además de a bajo contenido en la dieta, especialmente en los cereales. La administración de Se en las zonas endémicas ejerce un efecto profiláctico de la enfermedad, bien como selenato sódico adicionado a los suelos de cultivo, que eleva los niveles entre 2 y 8 veces en leche, carne y huevos, o con la suplementación con Se a pacientes con agotamiento en éste sometidos a nutrición parenteral total durante periodos prolongados. Así, la incidencia de la enfermedad de Keshan en China ha dejado de ser un problema de salud pública.

Existen varios aspectos epidemiológicos de la enfermedad de Keshan tales como la estacionalidad, difíciles de explicar si se considera únicamente a la deficiencia de Se. Muy recientemente se ha descrito que ciertas cepas no-virulentas de un pequeño poxvirus (el virus *Coxsackie*, cepa *B3*) cuando infecta ratones deficientes en Se muta hacia la formación de cepas virulentas y causa daños cardiacos. Esto podría explicar la aparición de cardiomiopatía en los niños con enfermedad de Keshan, que usualmente se infectan con este tipo de virus. El genoma del virus *Coxsackie*, cepa *B3*, codifica para una glutatión peroxidasa, lo que aparentemente sirve para protegerle del peróxido de hidrógeno producido por los leucocitos del hospedador. En ausencia de esta enzima, el genoma del virus parece afectarse y alguna de las mutaciones producidas aumenta su virulencia.

La enfermedad de Kashin-Beck es una osteoartropatía endémica que ha sido ligada también al estado nutricional deficiente de Se. Esta enfermedad afecta a niños entre 5 y 13 años de ciertas regiones de China y de la antigua Unión Soviética. El principal cambio patológico es una degeneración múltiple y necrosis del cartílago hialino, aunque se desconoce cuál es la implicación del Se en la formación de este tejido conectivo. Por otra parte, la interacción entre el metabolismo de las hormonas tiroideas y el Se, recientemente reconocida, puede ayudar al tratamiento de la deficiencia de I en áreas donde también el suelo es deficiente en Se, como ocurre en Zaire.

En los últimos años, múltiples estudios experimentales realizados en humanos han relacionado

Tabla 4. INGESTAS DIETÉTICAS DE REFERENCIA DE LOS OLIGOELEMENTOS ESENCIALES (Se, Mn, Cr, Mo e I) RECOGIDAS POR EL IOM (2002)

Grupos de edad	Se (μg/día)		Mn (mg/día)		Cr (μg/día)		Mo (μg/día)		I (μg/día)	
	RDA/ AI[a]	UL[b]	RDA/ AI[a]	UL[b]	RDA/ AI[a]	UL[b]	RDA/ AI[a]	UL[b]	RDA/ AI[a]	UL[b]
Lactantes										
0-6 meses	15*	45	0,003*	ND[c]	0,2*	ND[c]	2*	ND	110*	ND[c]
7-12 meses	20*	60	0,6*	ND[c]	5,5*	ND[c]	3*	ND	130*	ND[c]
Niños										
1-3 años	20	90	1,2*	2	11*	ND[c]	17	300	90	200
4-8 años	30	150	1,5*	3	15*	ND[c]	22	600	90	300
Varones										
9-13 años	40	280	1,9*	6	25*	ND[c]	34	1.100	120	600
14-18 años	55	400	2,2*	9	35*	ND[c]	43	1.700	150	900
19-30 años	55	400	2,3*	11	35*	ND[c]	45	2.000	150	1.100
31-50 años	55	400	2,3*	11	35*	ND[c]	45	2.000	150	1.100
50-70 años	55	400	2,3*	11	30*	ND[c]	45	2.000	150	1.100
> 70 años	55	400	2,3*	11	30*	ND[c]	45	2.000	150	1.100
						ND[c]				
Mujeres										
9-13 años	40	280	1,6*	6	21*	ND[c]	34	1.100	120	600
14-18 años	55	400	1,6*	9	24*	ND[c]	43	1.700	150	900
19-30 años	55	400	1,8*	11	25*	ND[c]	45	2.000	150	1.100
31-50 años	55	400	1,8*	11	25*	ND[c]	45	2.000	150	1.100
50-70 años	55	400	1,8*	11	20*	ND[c]	45	2.000	150	1.100
> 70 años	55	400	1,8*	11	20*	ND[c]	45	2.000	150	1.100
Embarazo										
≤ 18 años	60	400	2,0*	9	29*	ND[c]	50	1.700	220	900
19-30 años	60	400	2,0*	11	30*	ND[c]	50	2.000	220	1.100
31-50 años	60	400	2,0*	11	30*	ND[c]	50	2.000	220	1.100
Lactación										
≤ 18 años	70	400	2,6*	9	44*	ND[c]	50	1.700	290	900
19-30 años	70	400	2,6*	11	45*	ND[c]	50	2.000	290	1.100
31-50 años	70	400	2,6*	11	45*	ND[c]	50	2.000	290	1.100

[a] Ingestas dietéticas recomendadas (RDA) e ingestas adecuadas (AI) para los oligoelementos, que pueden ser empleadas como objetivos nutricionales que hay que conseguir en la ingesta individual. Las ingestas adecuadas van seguidas en la Tabla de un asterisco (*).

[b] Niveles máximos de ingesta diaria de los oligoelementos que no suponen efectos adversos para la salud. Representan la ingesta total a partir de agua, alimentos y suplementos consumidos. En su ausencia, como ocurre en el Cr, se ha de tener una precaución extra en el consumo de niveles por encima de las ingestas recomendadas.

[c] No determinado por falta de datos sobre los efectos adversos en este grupo de edad, dada la falta de capacidad para manejar cantidades en exceso. La fuente dietética deberían ser sólo los alimentos para prevenir altos niveles de ingesta.

Fuente: IOM: Institute of Medicine de EE UU, 2002.

un bajo estado nutricional en Se con algunas enfermedades como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares o algunas patologías hepáticas. Para otras enfermedades, como la diabetes, los resultados disponibles son contradictorios.

Se sabe que un déficit en Se origina una disminución de la actividad de la glutatión peroxidasa, lo que disminuye su capacidad catalítica de reducción de los hidroperóxidos orgánicos e inorgánicos, producidos durante el estrés oxidativo de los fosfolípidos de la membrana **(Figura 1)**, así como la oxidación metabólica de xenobióticos. En función de la teoría de los radicales libres y su influencia en la integridad de las membranas, esta enzima reduce el riesgo de padecer cáncer y enlentece el proceso de envejecimiento.

El Se presenta un efecto inhibidor del cáncer. Los niveles sanguíneos de este elemento bajan significativamente con la enfermedad, y todavía en mayor medida en los individuos con cáncer en estadios más avanzados. Se desconoce si este resultado es consecuencia o causa de la enfermedad. Un elevado número de estudios en humanos avalan este hallazgo. En ellos se ha evaluado el estado nutricional en Se (medido como niveles plasmáticos, séricos o sanguíneos, o como actividad de la glutatión peroxidasa plaquetaria) en pacientes con diferentes tipos de cáncer (digestivo, pulmonar, ginecológico, sanguíneo, etc.), y se ha contrastado con el del grupo control de adultos sanos.

También el Se se ha relacionado con la prevención de enfermedades cardiovasculares (ECV), fijándose en < 55 μg/l el nivel sérico asociado a un aumento de la enfermedad coronaria. En estudios en humanos se ha apreciado el descenso significativo de la concentraciones séricas o plasmáticas de Se en pacientes con diferentes problemas cardiovasculares como infarto agudo de miocardio (IAM), aterosclerosis, cardiomiopatía isquémica, fallo congénito del corazón, hipertensión arterial, etc. Sin embargo, no se sabe si tales diferencias son factores etiológicos o efectos biológicos de la ECV.

El déficit en Se en alcohólicos es debido a un bajo aporte nutricional de este elemento. Además, con el aumento progresivo del daño hepático se establece un descenso significativo más acusado en los niveles séricos de Se.

Aunque se han realizado estudios epidemiológicos en China y EE UU que han arrojado resultados prometedores en cuanto al efecto protector que sobre todo frente al cáncer podían tener los suplementos de Se, todavía es prematura la recomendación de salud pública relativa al lanzamiento al mercado de suplementos específicos de Se.

La toxicidad crónica por Se se caracteriza por pérdida de pelo y cambios en la morfología de las uñas de los dedos. En algunos casos aparecen lesiones de la piel y anomalías en el sistema nervioso, tales como parestesia, parálisis y hemiplejía. En los animales, el daño hepático es el hecho común de la selenosis crónica. La toxicidad del Se probablemente se debe a que este metal es un potente catalizador de la oxidación de grupos sulfidrilo y esto puede ejercer un efecto inhibidor de la síntesis proteica.

3. Manganeso (Mn)

3.1. Papel fisiológico

Las funciones bioquímicas del Mn son la representación de una historia incompleta, ya que el rango de defectos encontrados durante la deficiencia experimental de Mn en animales sugiere que existe una variedad de funciones dependientes de este metal aún por descubrir.

El Mn es un constituyente de varias enzimas y activador de otras muchas. El Mn forma parte de la superóxido dismutasa (SOD) mitocondrial, una enzima fundamental en el sistema de defensa antioxidante celular que cataliza la misma reacción que la enzima citosólica, concretamente la conversión del anión superóxido a peróxido de hidrógeno **(Figura 1)**. Actualmente, se considera que muchos de los daños ocasionados en la deficiencia de Mn ocurren por los efectos tóxicos de la acumulación del anión superóxido.

El Mn forma parte de la piruvato carboxilasa, una enzima clave en el proceso gluconeogénico. La enzima es un tetrámero que contiene un catión de Mn por cada unidad. La arginasa, una enzima importante del ciclo de la urea es también una metaloenzima de Mn. La fosfoenolpiruvato carboxikinasa, la acetil-CoA carboxilasa y la tirosina sulfotransferasa entre otras enzimas también requieren Mn **(Tabla 1)**. La mayor parte de las enzimas activadas por el Mn también lo son por el magnesio (Mg).

El Mn se relaciona con la formación del tejido conjuntivo esquelético, y por tanto con la formación del hueso, el crecimiento y la reproducción, así como el metabolismo de los hidratos de carbono, de los lípidos (colesterol) y de los aminoácidos.

3.2. Fuentes dietéticas

Las concentraciones típicas de este elemento en los alimentos oscilan entre 0,2 μg de Mn/g, en fuentes pobres en este mineral, como las carnes, productos lácteos y pescado, y 20 μg de Mn/g en frutos secos, cereales, legumbres y granos enteros, donde se encuentra en elevada proporción. Las verduras y las frutas frescas suelen contener cantidades intermedias (0,2-2 μg de Mn/g). El té y el café presentan concentraciones relativamente altas en Mn, pudiendo éstos constituir hasta el 10% de la ingesta diaria para algunas personas.

3.3. Cinética y metabolismo

La absorción de Mn por el ser humano es muy baja, alrededor del 6%, y oscila entre el 1 el 16%. Esta absorción se lleva a cabo en todo el intestino delgado. Prácticamente el 99% de las pérdidas son fecales y tan sólo una pequeña parte se pierde por la piel (0,7%) y por la orina (0,1%). La vida media del Mn corporal es de tan sólo de 3 a 10 semanas, lo que significa que se renueva en un tiempo muy corto, alrededor de tres veces más rápido que el Mg. La absorción del Mn es inhibida por Fe, y parece que la fibra dietética, y sobre todo el ácido fítico, ejercen un efecto negativo sobre la biodisponibilidad del Mn.

Para muchas especies, incluido el ser humano, se asume que la absorción de este elemento es independiente del estado nutricional del Mn y del contenido de la dieta y ocurre en todo el tramo del intestino delgado en un proceso saturable, probablemente ligado a un transportador activo de elevada afinidad y baja capacidad que lo introducen en la célula de la mucosa. Los mecanismos de absorción del Mn parecen ser similares a los del Fe. En un segundo paso, el Mn es transportado vía intracelular hasta la sangre portal, en donde se une a la α_2-microglobulina o a la albúmina, o forma complejos de Mn^{2+} con compuestos de bajo peso molecular. En ambos pasos el Mn compite con el Fe y el Co. El Mn es rápidamente captado por el hígado y en parte oxidado a Mn^{3+}, desde donde es exportado por la transferrina o posiblemente también por una proteína denominada transmanganina hasta los tejidos periféricos y captado por un proceso mediado por receptores.

Los niveles plasmáticos de Mn varían desde 0,824 a 1,648 μg, con cambios diarios dentro de este rango en los niveles de un mismo individuo, mientras que el contenido en los eritrocitos es de 20 ng/ml de células empaquetadas. La concentración total de Mn en hígado es 1,92 mg, alrededor de 1.000 veces menos que de Mg. El Mn aparece libre en las células hepáticas en una concentración de 10,99 a 54,9 g; el ligado débilmente e intercambiable, en 16,48 mg; y el resto, ligado firmemente a proteínas. Las mitocondrias presentan una concentración mucho más elevada, alrededor de 16,48 mg, tan sólo 100 veces menos que de Mg. Su principal vía de excreción es la bilis, apareciendo sólo una pequeña porción en la orina. La excreción urinaria permanece prácticamente constante, ya que la orina contiene 7 ng/g de creatinina. Tanto los niveles plasmáticos como los de orina no parecen afectarse por las variaciones de ingesta.

3.4. Ingestas y requerimientos

Los alimentos ricos en cereales y otros vegetales llegan a suministrar alrededor de 8 mg/día de Mn, mientras que dietas con alto contenido de proteínas de origen animal y que contienen ingredientes refinados suministran 0,4-1,8 mg/día. No existen datos suficientes para establecer los requerimientos basales o normativos de Mn. Sin embargo, se ha sugerido que el requerimiento mínimo debido a las pérdidas corporales en sujetos jóvenes que consumían de forma voluntaria una dieta semipurificada deficiente en Mn, es de 0,74 mg/día. Este valor es difícil de conciliar con el hecho de que muchas de las ingestas de Mn oscilen alrededor de 2-5 mg/día en las poblaciones occidentales.

La mayoría de las ingestas promedio en Mn llevadas a cabo en diferentes países varían entre 0,52 y 10,8 mg de Mn/día. En España se han observado ingestas medias en este elemento cifradas en 3,1 mg de Mn/día, correspondientes a un rango entre 2,13 y 4,61 mg/día. Las RDA y las AI, según es-

tablece el ***I**nstitute **o**f **M**edicine* (IOM), oscilan entre 2,3 y 2,6 mg/día, situándose el UL en 11 mg/día **(Tabla 4)**.

3.5. Deficiencia y toxicidad

Los datos disponibles sobre los efectos fisiológicos que resultan de la deficiencia de Mn están limitados prácticamente a los resultados obtenidos en estudios animales. En los animales, la deficiencia de Mn da lugar a un pobre crecimiento, alteración de la capacidad reproductiva, incapacidad para estar de pie o en posición supina y causa hinchamiento y desorganización del retículo endoplásmico, así como defectos en la membrana mitocondrial. La deficiencia en los animales gestantes causa anormalidades del esqueleto de las crías y ataxia.

En los humanos la deficiencia ocasiona enrojecimiento de la piel del torso superior y resorción neta de la estructura ósea. Asimismo, se descubrió un caso de déficit en el hombre en el que la coagulación sanguínea defectuosa no se corregía con vitamina K, a menos que se suministrase previamente este elemento. La escasez de Mn en la dieta y en consecuencia un bajo estado nutricional en este elemento se ha relacionado con osteoporosis, diabetes, epilepsia, ateroesclerosis y falta de cicatrización de heridas. Los lactantes son los que con mayor frecuencia pueden sufrir una deficiencia en Mn por la baja concentración presente en la leche materna, así como por los niveles variables existentes en las fórmulas infantiles.

El Mn es el menos tóxico de los elementos traza cuando se ingiere por vía oral. En el hombre no se tiene constancia de intoxicaciones asociadas a una elevada ingesta dietética, aunque sí se conoce la intoxicación en mineros o trabajadores sobreexpuestos a altos niveles en el aire y humos. El umbral de toxicidad es desconocido, pero cuando se inhala en cantidades elevadas, hecho que ocurre en algunas minas e industrias, da lugar a alteraciones psiquiátricas denominadas globalmente como la "locura del manganeso". La progresión de la toxicidad da lugar a alteraciones permanentes del sistema extrapiramidal con lesiones muy similares a las de la enfermedad de Parkinson.

Puesto que el Mn presente en el agua de bebida y suplementos puede presentar una biodisponibilidad superior a la de los alimentos, hay que tener una especial precaución cuando se empleen suplementos en Mn, sobre todo en individuos vegetarianos estrictos, pues podrían aparecer problemas de sobredosificación. En éstos, sus dietas a base de plantas ya aportan cantidades elevadas de Mn. También los sujetos con hepatopatías pueden ser especialmente sensibles a los efectos adversos derivados de una ingesta excesiva de Mn.

4. Cromo (Cr)

4.1. Papel fisiológico

El Cr es un elemento esencial que potencia la acción de la insulina, influenciando el metabolismo de los hidratos de carbono, los lípidos y las proteínas. Sin embargo, la naturaleza de la relación entre la insulina y el Cr aún no se ha establecido. Se ha sugerido que la forma biológicamente activa del Cr, denominada factor de tolerancia a la glucosa (GTF) **(Tabla 1)** es un complejo de Cr^{3+}, ácido nicotínico y posiblemente los aminoácidos glicina, glutamato y cisteína. Se han realizado muchos intentos para aislar el GTF, ninguno de ellos con éxito.

Se ha descubierto una forma biológicamente activa del Cr llamada sustancia de unión al Cr de bajo peso molecular, que interviene en el metabolismo de los hidratos de carbono y de los lípidos, como un mecanismo nuevo de amplificación de la insulina. Este oligopéptido característico de los mamíferos, potencia la capacidad de la insulina para estimular la conversión de la glucosa en lípidos por adipocitos aislados de rata.

El Cr se presenta en la naturaleza en diferentes estados de oxidación que van desde -2 a +6, siendo los más comunes +2, +3 y +6. Este último predomina en forma de cromatos o dicromatos y es reducido en el medio ácido del estómago hasta Cr^{3+}. Las formas de Cr^{3+} son las más estables y forman numerosos complejos de coordinación que se caracterizan por ser químicamente inertes, lo que hace poco probable que el Cr forme parte de metaloenzimas. Sin embargo, puede funcionar estabilizando estructuras de proteínas o de ácidos nucleicos.

El Cr puede tener una función bioquímica, aumentando la capacidad del receptor de insulina para interaccionar con la hormona. Así, se ha demostrado que *in vitro* la síntesis de RNA aumenta por

unión del Cr al DNA, lo que sugiere que el Cr podría ejercer una misión similar a la del Zn en la regulación de la expresión génica, de manera que regularía la síntesis de una molécula que potenciaría la acción de la insulina. Esta sugerencia está avalada por el hallazgo de la existencia de un periodo de retraso de 4 horas entre la administración de Cr activo y sus efectos óptimos sobre la acción de la insulina *in vivo*.

También se ha subrayado el efecto beneficioso del Cr en los perfiles lipídicos, con una disminución de los niveles de colesterol total, de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) y de los triglicéridos; sin embargo, se aprecia un aumento de las HDL (lipoproteínas de alta densidad).

4.2. Fuentes dietéticas

El Cr se encuentra en pequeñas cantidades en todos los alimentos, en concentraciones que oscilan entre < 0,050 en frutas y 1,225 μg/g en carnes y derivados; la pimienta negra, la levadura de cerveza, los ostiones, carnes e hígado y las patatas tienen altas concentraciones de Cr (entre 0,6 y < 1,6 μg/g). Es de destacar el contenido también elevado presente en infusiones, té y café (entre 0,3 y 1,5 μg/g). Con un contenido intermedio en este elemento figuran los mariscos y pescados marinos, granos enteros, productos lácteos y salvado (entre 0,1 y 0,6 μg de Cr/g). Por otro lado, las frutas y las verduras tienen una concentración baja en Cr (entre 0,010 y < 0,100 μg/g).

En un estudio realizado en España se ha comprobado que las principales fuentes en la ingesta diaria de Cr son, tanto por la concentración determinada en los alimentos como por el alto consumo de los mismos, las carnes y derivados, los cereales y derivados, con el pan como alimento individual principal, y la leche y productos lácteos.

El refinado de los cereales para obtener harinas y del azúcar origina unos productos que en general tienen menos Cr. Se ha apreciado cómo el trigo y arroz integrales con 1,75 y 0,16 μg de Cr/g, con el refinado, pierden hasta un 87 y un 75%, respectivamente, del Cr presente. También la obtención de azúcar supone un pérdida del 80% del elemento presente en la caña. El procesado tecnológico también puede añadir Cr a los alimentos. El acero inoxidable contiene entre un 11 y un 30% de Cr, que puede escapar a los alimentos, sobre todo cuando el medio es ácido. Este aumento del contenido en Cr se ha observado en carnes procesadas.

4.3. Cinética y metabolismo

La absorción intestinal del Cr^{3+} es baja, variando entre 0,5 y 2% de la ingesta dietética, siendo el yeyuno el lugar donde es absorbido en mayor proporción, fundamentalmente por difusión pasiva. Sin embargo, la absorción del Cr^{6+} parece ser seis veces mayor. Algunas evidencias sugieren que el Cr orgánico puede ser más fácilmente absorbido, pero parece que no es utilizado, al ser a su vez eliminado a mayor velocidad.

El mecanismo de absorción intestinal del Cr no ha sido identificado claramente, pero parece que existen mecanismos activos además de la difusión simple. Numerosos factores dietéticos, incluidos el oxalato, el ascorbato, el hierro y elevadas cantidades de azúcares simples alteran la biodisponibilidad del elemento. Así, la biodisponibilidad aumenta en presencia de oxalato, ascorbato y en la deficiencia de hierro (por problemas de competencia entre minerales por la fijación a los sitios de absorción), y es menor en presencia de hidratos de carbono simples como la glucosa, la fructosa y la sacarosa, en comparación con el almidón. También se ha observado que el tanto por ciento que se absorbe a partir del Cr ingerido en la dieta es mayor cuando la ingestión es baja. Además, la absorción se afecta por otros factores, como la diabetes.

La absorción (15-20%) y biodisponibilidad derivada del Cr biológicamente activo, en forma de GTF, es superior a la del Cr^{3+} inorgánico. La biodisponibilidad se ve a su vez afectada por factores dietéticos, como son la forma química, composición de la dieta, contenido en el lumen intestinal, interacción con otros elementos, así como por factores fisiológicos endógenos tales como el estado de la mucosa intestinal, estado nutricional de los individuos, mecanismos homeostáticos, proteínas transportadoras, etc.

Tanto la transferrina como la albúmina son capaces de absorber Cr y transportarlo por el plasma. La saturación de la transferrina con Fe reduce el transporte y la retención de Cr, siendo entonces la albúmina el principal transportador. Otras proteínas plasmáticas como las γ-globulinas y las lipoproteínas también transportan Cr y pudieran

desempeñar alguna función en el metabolismo de este elemento **(Tabla 1)**. Una pequeña fracción se vehiculiza bajo la forma de complejos al unirse a péptidos de cadena corta y aminoácidos.

El Cr está distribuido uniformemente en los tejidos corporales humanos, sin que exista un órgano con mayor concentración. El Cr absorbido es excretado mayoritariamente a través del riñón, con pequeñas cantidades en el pelo, el sudor y la bilis. La reabsorción tubular es elevada con un rango del 80-97%. El ejercicio intenso, traumatismos físicos y un mayor consumo de azúcar simple originan una excreción mayor de Cr.

4.4. Ingestas y requerimientos

La ingesta diaria de Cr es muy variable y depende ampliamente de las cantidades y tipos de alimentos consumidos en la dieta. Las elevadas ingestas dietéticas publicadas antes de 1980 parecen cuestionables debido a las técnicas analíticas empleadas. Datos recientes indican que las ingestas habituales de Cr son inferiores a 50 μg/día, y además que para ser equilibradas deben contener 13,3 ± 5,2 μg de Cr/1.000 kcal. En EE UU las ingestas diarias a través de la dieta han oscilado entre 5 y 115 μg de Cr/día; en Bélgica, entre 26,1 y 57,9 μg de Cr/día; en Suecia, se han determinado ingestas diarias de 22 μg de Cr/día, y de 47 μg de Cr/día en Japón. En estudios realizados en España se encontraron niveles de ingesta comprendidos entre 77,50 y 160 μg/día.

Existe el problema de la falta de un indicador apropiado del estado de Cr, lo que hace que la evaluación de la ingestión adecuada resulte problemática. De hecho, parece ser que la verdadera necesidad de Cr en adultos sanos es sustancialmente menor que la indicada en las recomendaciones previas, cifrada entre 50 y 200 μg de Cr/día. En la **Tabla 4** vienen recogidas las RDA y las AI establecidas por el IOM (2002), que han reducido las antiguas al rango comprendido entre 35 y 45 μg/día en adultos sanos. Una ingesta inferior a 20 μg de Cr/día es deficiente, por lo que una suplementación de este elemento en los sujetos que siguen estas dietas deficitarias tiene un efecto positivo en su estado nutricional, manifestado en un aumento de la sensibilidad a la insulina.

Dada su amplia distribución en los alimentos, la dieta resulta suficiente para alcanzar los requerimientos diarios en Cr. A pesar de ello, a veces resulta beneficioso un suplemento de extracto de levadura de cerveza, particularmente en ancianos, niños desnutridos o diabéticos.

4.5. Deficiencia y toxicidad

El Cr tisular no parece estar en equilibrio con el Cr plasmático y por consiguiente los niveles plasmáticos no son un buen indicador del estado de deficiencia de Cr. Sin embargo, algunos estudios sugieren que concentraciones de Cr mucho más bajas que los niveles considerados como normales (0,14-0,15 ng/ml para suero o 0,26-0,28 ng/ml para plasma) pueden indicar la presencia de una deficiencia grave de Cr. Asimismo, los niveles séricos elevados pueden ser indicadores útiles de exposición excesiva al Cr. La mediana de Cr en hombre dedicado al curtido de pieles asciende a 0,49 ng/ml.

En función de las evidencias actuales no puede ignorarse que un estado deficiente de Cr pueda ser responsable en parte de algunos casos de intolerancia a la glucosa, hiperglucemia, hipoglucemia, glucosuria y refracción a la insulina e hipercolesterolemia **(Tabla 1)**. La suplementación de Cr a la dieta de niños con desnutrición proteico-energética, en algunos pacientes diabéticos y en algunos sujetos con elevación marginal de la glucosa, mejora la tolerancia a la glucosa. Además de la desnutrición, las poblaciones de países desarrollados que consumen alimentos refinados son las mejores candidatas a presentar deficiencia de Cr.

También se han encontrado signos de deficiencia en Cr en sujetos sometidos a nutrición parenteral total (NPT) con bajos niveles de Cr durante largos periodos de tiempo, que se traduce en una alteración de la tolerancia a la glucosa, pérdida de peso, trastornos neurológicos, aumento de las concentraciones de ácidos grasos libres en el plasma, anormalidades en el metabolismo del nitrógeno y depresión respiratoria.

La toxicidad por ingestión oral del Cr^{3+}, forma predominante en los alimentos, es poco plausible, ya que su absorción es escasa. Se ha indicado que este elemento tiene un efecto inductor de fallo renal crónico. La toxicidad por Cr ocurre en los ambientes industriales bajo la forma de Cr^{6+} en los que el contacto con la piel de este elemento y su inhalación es frecuente. Su exposición crónica tie-

ne un efecto cancerígeno a nivel pulmonar en el ser humano y puede ser inductor de dermatosis.

5. Molibdeno (Mo)

5.1. Papel fisiológico

En el hombre el Mo funciona como un cofactor enzimático de tres enzimas (aldehído oxidasa, sulfito oxidasa y xantina oxidasa-deshidrogenasa), que catalizan la hidroxilación de varios sustratos **(Tabla 2)**. El cofactor denominado molibdopterina y sintetizado a partir de GTP es una pterina sustituida en la que el átomo de Mo está unido a dos átomos de azufre.

La aldehído oxidasa oxida y detoxifica varias pirimidinas, purinas, pteridinas y compuestos relacionados. La xantina deshidrogenasa (XDH) cataliza la transformación de hipoxantina a xantina y de xantina a ácido úrico. Ambas enzimas pueden catalizar la conversión de acetaldehído hasta ácido acético, aunque la velocidad de catálisis es mayor en la aldehído oxidasa. La sulfito oxidasa cataliza la transformación de sulfito a sulfato, procedente de la cisteína y de la metionina o directamente de la dieta. Por otra parte, el molibdato parece estar implicado en la estabilización del receptor de los glucocorticoides y probablemente de otras hormonas esteroídicas.

La XDH normalmente actúa como una deshidrogenasa dependiente de NAD, pero cuando reacciona con el oxígeno inicia la producción de anión superóxido y posteriormente se forman otros radicales libres de oxígeno responsables del daño tisular observado en los infartos de miocardio, daños físicos tisulares y en numerosas toxinas, incluido el exceso de Mo. La conversión de la XDH en xantina oxidasa implica la oxidación de un residuo de cisteína o la ruptura de un péptido específico de la enzima.

5.2. Fuentes dietéticas

El Mo presenta una amplia distribución en alimentos de uso común. Los alimentos más ricos en Mo (30-200 μg/kg) son la leche y los productos lácteos, las legumbres, carne y vísceras (hígado y riñón), los cereales y sus derivados (> 150 μg/kg), y las nueces **(Tabla 2)**. Las fuentes más pobres (< 30 μg de Mo/kg) incluyen las verduras, los frutos, los azúcares, las grasas, el pescado y las bebidas. Existen diferencias regionales de contenido en Mo de los alimentos considerables, debido a la variable composición de los suelos y del agua de bebida.

5.3. Cinética y metabolismo

El Mo de los alimentos en forma de complejos solubles, especialmente en forma de Mo hexavalente, es fácilmente absorbido por los seres humanos (25-80% del Mo de la dieta). El conocimiento de la absorción del Mo deriva de estudios llevados a cabo en animales. El Mo parece absorberse en el estómago y en el intestino proximal, más que en la parte distal. Cuando las concentraciones de Mo son bajas, se absorbe por transporte activo y cuando son elevadas por difusión pasiva. La absorción y retención de Mo está muy influenciada por las interacciones entre el mineral y varias formas de sulfuro y de cobre **(Tabla 2)**.

El molibdato absorbido es retenido totalmente en la sangre por microglobulina y se acumula en hígado y riñón asociado a macromoléculas, parcialmente como molibdoenzimas, y formando parte de la molibdopterina. Después de la absorción, la mayor parte del Mo se elimina como molibdato a través del riñón, aunque también se excretan grandes cantidades por la bilis. Es de señalar que el principal mecanismo homeostático del Mo es la regulación de la excreción y no de la absorción.

5.4. Ingestas y requerimientos

La ingestión diaria de Mo oscila entre 50 y 350 μg/día, situándose la mayoría de las evaluaciones de su ingesta en torno a 50-100 μg de Mo/día. Además, se ha establecido que estos consumos disminuyen lentamente a lo largo de la vida adulta.

Las ingestas en la dieta diaria consideradas adecuadas y seguras para el Mo se sitúan entre 75 y 250 μg/día. En función de los datos recientes disponibles, el requerimiento de Mo en adultos es más próximo a 25 μg/día, por lo que el rango descrito anteriormente debería ser bajado. En la **Tabla 4** se recogen las RDA y las AI, así como los UL para el Mo fijados en el rango de 300 a 2.000 μg/día, según establece el IOM.

5.5. Deficiencia y toxicidad

La actividad reducida de la XDH se asocia a la aparición de xantinuria, un defecto genético caracterizado por la baja excreción de ácido úrico y elevadas concentraciones de xantina e hipoxantina. El depósito de estas sustancias en el músculo origina una miopatía menos grave. Bajas ingestas de Mo reducen la actividad de la XDH, pero no existen evidencias convincentes de que la menor actividad de esta enzima cause cambios clínicos relevantes.

La deficiencia genética de sulfito oxidasa detectada en la infancia es letal a la edad de 2-3 años. Las lesiones producidas consisten en anormalidades neurológicas graves, retraso mental y ectopia del cristalino, así como un aumento de la excreción urinaria de sulfito, tiosulfato y sulfocisteína, con un descenso paralelo en la excreción de sulfato. Los cambios patológicos ocurren por la acumulación de sulfito en los tejidos y por la inadecuada producción de sulfato necesario para la síntesis de sulfolípidos y de proteínas y hormonas sulfoconjugadas. Otras enfermedades genéticas están asociadas a la incapacidad de síntesis del cofactor molibdopterina.

Se ha descrito una deficiencia nutricional de Mo en un paciente sometido a nutrición parenteral total y en pacientes con enfermedad de Crohn sometidos a resección ileonal y nutrición parenteral total. La deficiencia da lugar a un descenso de actividad de la sulfito oxidasa y ocasiona sintomatología clínica que cursa con taquicardia, taquipnea, ceguera nocturna, alteraciones mentales y coma. Este síndrome se acentúa por la administración de metionina, originando hipermetioninemia, hipouricemia, hiperoxipurinemia, hipouricosuria y excreción baja de sulfatos en la orina. La infusión parenteral de molibdato elimina los síntomas de la deficiencia.

La deficiencia de Mo coexiste con la deficiencia de Se, por lo que se ha sugerido que parte de la sintomatología de la enfermedad de Keshan pueda deberse a la deficiencia de Mo. Por otra parte, estudios epidemiológicos y de experimentación animal, sugieren que la deficiencia de Mo origina una mayor susceptibilidad al cáncer esofágico, gástrico y mamario. El efecto del Mo sobre la prevención de la caries dental aún no ha sido aclarado.

El Mo es un elemento escasamente tóxico y se necesitan dosis orales muy elevadas de 10 a 15 mg/día para alterar el mecanismo homeostático de control de este elemento que origina un síndrome semejante a la gota. La intoxicación con Mo se acompaña de un amplio rango de síntomas, algunos atribuibles a la inducción de una deficiencia de Cu secundaria. La molibdenosis da lugar a osteogénesis alterada y deformidades esqueléticas, fracturas subepifisarias y exostosis mandibular, probablemente por una alteración en el metabolismo del fósforo. La fosfatasa alcalina y el contenido de proteoglicanos del cartílago también disminuye.

Las bases del efecto antagónico y recíproco del Mo en la utilización del Cu son, en primer lugar, la reacción del molibdato con el sulfuro generado por la reducción bacteriana del sulfato en el tracto gastrointestinal y, en segundo lugar, la reacción con Cu de los tiomolibdatos producidos, dando lugar a compuestos en los que el Cu no puede ser utilizado. Otras consecuencias de la intoxicación de Mo *per se* incluye la inhibición de la formación de fosfoadenín-fosfosulfato. Debido a esta interacción, sujetos con ingestas dietarias deficientes en Cu o con alguna disfunción en el metabolismo del Cu que los hace deficientes en éste presentan un riesgo aumentado de toxicidad por Mo.

6. Yodo (I)

6.1. Papel fisiológico

El I en forma de anión monovalente o yoduro es un componente de las hormonas tiroideas en todos los mamíferos **(Tabla 2)**. Tanto la tiroxina [3,5,3',5'-tetrayodotironina (T_4)] como la triyodotironina [3,5,3'-triyodotironina (T_3)] desempeñan un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo del ser humano, así como en la regulación del metabolismo energético y el de los macronutrientes, y de la producción de calor a lo largo de toda la vida. Así, las hormonas tiroideas son responsables de un aumento en la proporción del metabolismo basal a través de varias reacciones que cursan con consumo de ATP, asociadas a un incremento en la actividad de la cadena respiratoria y con el mayor consumo de oxígeno por los tejidos. Específicamente, el mayor consumo de ATP se debe a un incremento en la actividad de la bomba Na,K-ATPasa y a la síntesis de ácidos grasos. En realidad, lo

que hacen las hormonas tiroideas es aumentar los ciclos fútiles de energía, ya que, asociada a la síntesis de ácidos grasos, también se da una mayor oxidación.

6.2. Fuentes dietéticas

El I está presente en los alimentos principalmente en forma de yoduro y, en menor medida, unido covalentemente a aminoácidos. El contenido de I, tanto de los alimentos como de la dieta total, difiere apreciablemente y está influenciado por la composición del suelo y las condiciones de los cultivos que modifican sensiblemente la captación del mineral por los cultivos y por los alimentos de origen animal.

Los alimentos de origen marino (los mariscos, los pescados y las algas) constituyen la fuente principal de I en la dieta, con unas concentraciones que oscilan entre 300 y 3.000 μg/kg **(Tabla 2)**. El pescado de agua dulce con un contenido en I comprendido entre 20 y 200 μg/kg es una fuente moderada en este elemento. En la leche de vaca y los huevos, el contenido de I depende de los yoduros disponibles en la dieta del animal. Las hortalizas, frutas y cereales cultivados en suelos de bajo contenido en I son fuentes pobres del mismo; los niveles de este elemento en estas fuentes alimenticias reflejan la cantidad de I del suelo, del agua y de los fertilizantes usados en la producción vegetal. Actualmente, el consumo de sal yodada constituye una importante fuente de este mineral en la dieta, llegando a aportar hasta 600 μg de I/día.

El mayor contenido de I en el agua marina que en el agua dulce hace que los niveles en I en los suelos de cultivo próximos a las zonas costeras, y por lo tanto en las plantas y forrajes en ellos cultivados, sean superiores. Este hecho se debe a la volatilización del I desde el medio marino y su consiguiente paso al medio atmosférico, desde el cual se deposita en los suelos colindantes con las precipitaciones de lluvia. Por este motivo, el establecimiento de deficiencias de I en la alimentación de poblaciones próximas a las zonas costeras es más dificultoso.

El I también entra en la cadena alimentaria a través de los yodóforos, empleados como desinfectantes en el procesamiento de productos lácteos, como agentes colorantes o bien como acondicionadores de masa panaria en los países donde están permitidos. Por este motivo, los alimentos procesados pueden ser una fuente importante de I.

Los procesos culinarios y tecnológicos de procesado por calor de los alimentos reducen su contenido en I. El hervido da lugar a una reducción cercana al 60%, el asado a la plancha provoca una pérdida del 23%, y el proceso de fritura, alrededor de un 20%.

Varios alimentos contienen cianoglucósidos capaces de liberar cianuro por hidrólisis. No sólo el cianuro es tóxico, sino que su metabolito producido en los tejidos corporales, el tiocianato, es un agente bociogénico. La casava, un alimento cultivado en numerosos países en vías de desarrollo del que se obtiene la harina de mandioca, contiene en su parte comestible cantidades apreciables de cianoglucósidos. Antes de su consumo se destoxifica, eliminando el CN^- existente, del cual, sin embargo, quedan vestigios, que cuando son consumidos con el alimento se transforman en tiocianato (SCN^-) en el hígado por acción de la enzima rodanasa.

Otros compuestos azufrados como los tioglucósidos liberan directamente en su metabolización SCN^-. Estos compuestos están presentes en las especies de plantas de la familia de las crucíferas como la col, coles de Bruselas, coliflor, brócoli, mostaza, nabos, etc., y también presentan efecto bociógeno al bloquear la captación de I de la sangre por las células tiroideas e inhibir la síntesis de hormonas tiroideas funcionales. También los disulfuros existentes en las plantas del género *Allium*, como la cebolla, el ajo o el puerro, tienen efecto bociógeno.

Los flavonoides presentes en las plantas, como son los derivados fenólicos (p. ej., los existentes en el cacahuete), se comportan también como bociógenos, ya que tienen un efecto inhibidor de la peroxidasa tiroidea; además, dada su similitud estructural con el aminoácido tirosina, compiten con éste en el proceso de yodación, originando compuestos sin actividad de hormonas tiroideas.

6.3. Cinética y metabolismo

El I es rápidamente absorbido de forma casi completa y si se ingiere en exceso los niveles corporales se regulan mediante excreción renal. La absorción es normalmente completa, aunque puede alterarse

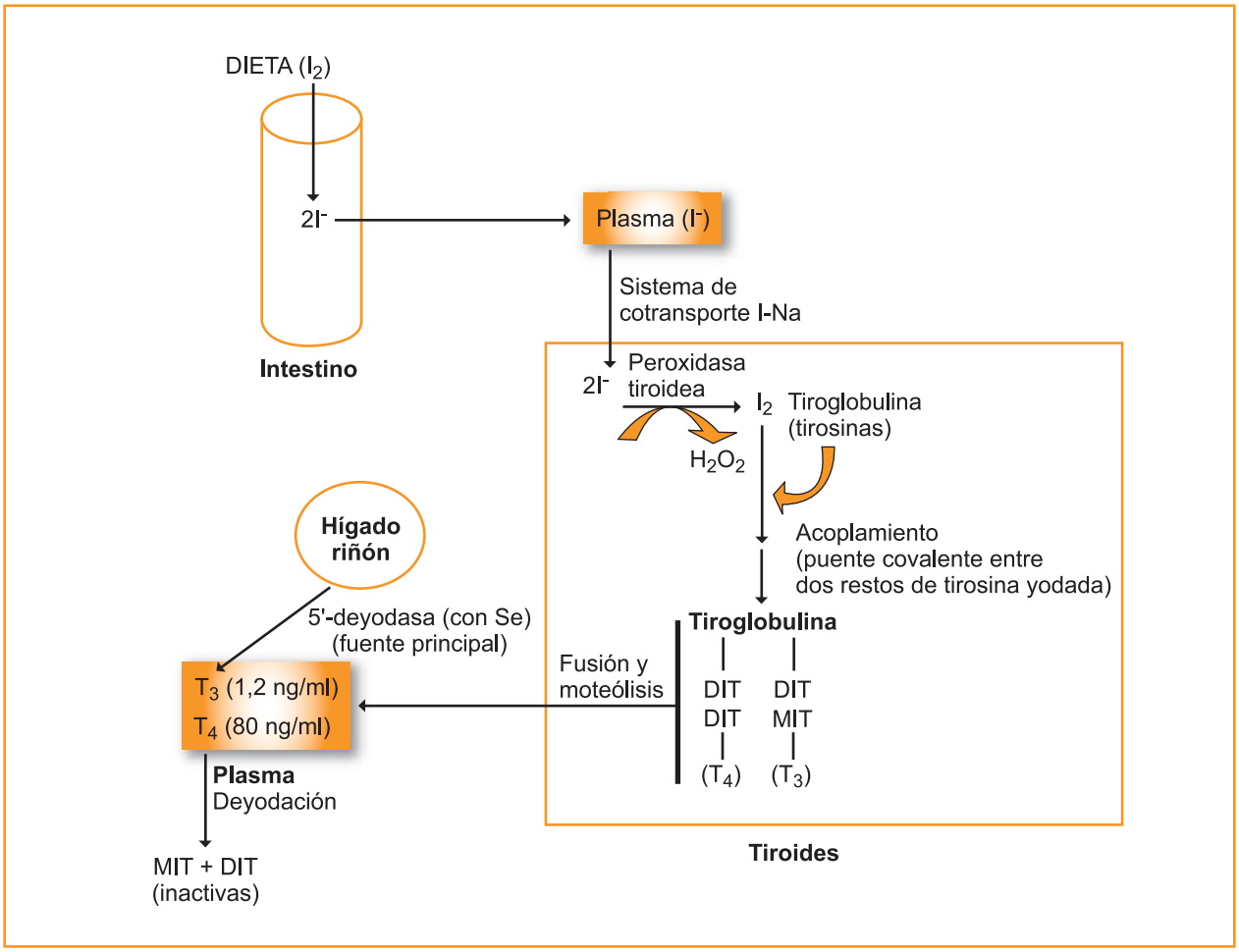


Figura 4. *Metabolismo del I en el organismo y empleo en la síntesis de hormonas tiroideas. DIT: diyodotironina; MIT: monoyodotironina.*

en los procesos de desnutrición proteico-energética. Sin embargo, las hormonas tiroideas presentes en los alimentos de origen animal no se absorben completamente y se suelen perder en un 50%.

Los suplementos de I pueden estar en forma de yoduro potásico (KI) o de yodato potásico (KIO_3). El anión yodato es reducido rápidamente hasta yoduro mediante un proceso no enzimático mediado por sustancias tiólicas, incluido el glutatión.

El yoduro presente en la corriente sanguínea entra en el tiroides por medio de un sistema de cotransporte I-Na. El cotransportador facilita la entrada acoplada de Na y de I en la célula. El primer paso en la síntesis de hormonas tiroideas es la incorporación del yoduro en los residuos de tirosina de una proteína de elevado peso molecular (660.000 Da) que se denomina tiroglobulina **(Figura 4)**. Esta proteína está compuesta de dos subunidades idénticas y contiene 140 restos de tirosina. Normalmente, la tiroglobulina contiene 10-50 átomos de I; así, menos de una tercera parte de los restos de tirosina contienen I en forma mono o diyodada.

El segundo paso en la síntesis de las hormonas tiroideas es la formación de un puente covalente entre dos restos de tirosina yodada para originar un dímero. Las reacciones bioquímicas que ocurren durante la síntesis de hormonas tiroideas son muy bien conocidas; tanto éstas como su mecanismo de acción se consideran de forma más precisa en el Capítulo 1.4. La mayor parte de la hormona liberada es T_4 y tan sólo un 10% está en forma de T_3. Después de la liberación de las dos hormonas, la tiroglobulina es proteolisada en los lisosomas,

liberando las tirosinas yodadas que no participan en el proceso y que se reciclan muy eficientemente en la glándula tiroidea.

La concentración sérica de T_4 es de 80 ng/ml, y la de T_3, de 1,2 ng/ml. La mayor parte de la T_3 del suero no procede directamente de la tiroglobulina, sino que se produce por acción de la 5'-deyodasa presente en el retículo endoplásmico del hígado y del riñón. Esto significa que la mayor parte de la T_3 que entra en el músculo esquelético se produce con la participación de la glándula tiroidea y del hígado. Por otra parte, el cerebro forma su propia T_3 a partir de T_4. Aproximadamente un 40% de la T_4 es convertido a una forma T_3 inactiva (T_3 inversa). Posteriormente, tanto la T_4 como la T_3 inversa son deyodadas para producir compuestos inactivos como la mono y la diyodotironina, que son excretadas en la orina. Las deyodasas contienen selenio y de su papel se hablará en este mismo Capítulo, más adelante **(Figura 4)**.

Las hormonas tiroideas tienen una vida media larga en la corriente sanguínea (varios días), probablemente porque van unidas a proteínas plasmáticas, de las cuales las más importantes son la proteína ligadora de hormonas tiroideas, también denominada transtirretina o prealbúmina, y la albúmina. La transtirretina forma un complejo 1:1 con la proteína ligada al retinol (RBP: ***R**etinol **B**inding **P**rotein*) en el plasma sanguíneo, y este complejo sirve para prevenir las pérdidas de RBP por la orina.

La excreción urinaria es un indicador sensible de la ingesta y del estado nutricional del I. Un nivel superior a 50 μg de I/g de creatinina se considera indicativo de un estado adecuado; niveles menores que 25-50 μg de I/g de creatinina indican riesgo de deficiencia, y niveles aun menores son indicadores de un riesgo grave.

6.4. Ingestas y requerimientos

La ingesta normal de I fluctúa entre 100 y 150 μg/día. Los consumos medios estimados de I para la población estadounidense se sitúan entre 130 y 140 μg/día para las mujeres, y entre 182 y 204 μg/día para los varones. Estos consumos resultan adecuados y cubren sobradamente los requerimientos gracias a la yodación de la sal.

La RDA media recomendada de I para la población adulta es de 150 μg/día **(Tabla 4)**. Este nivel es adecuado para mantener la función tiroidea. Sin embargo, en presencia de agentes bociógenos en la dieta, la ingesta debería aumentarse hasta 200-300 μg de I/día. El UL es de 1.100 μg de I/día, según recoge el IOM.

6.5. Deficiencia y toxicidad

Los efectos de la deficiencia de I sobre el crecimiento y el desarrollo se conocen con el término genérico de alteraciones de la deficiencia por I (IDD: ***I**odine **D**eficiency **D**isorders*). Estos efectos son evidentes en todas las edades pero particularmente en los periodos fetal, neonatal y la infancia, etapas todas ellas de rápido crecimiento. El término bocio ha sido utilizado durante muchos años para describir el efecto primario de la deficiencia de I y aparece cuando la ingesta es inferior a 50 μg de I/día. El bocio es por tanto el síntoma familiar y más obvio de la deficiencia de I. A causa de los avances en el conocimiento de la deficiencia de este elemento, en los últimos 30 años se ha introducido y generalizado el nuevo término IDD.

Amplias poblaciones tienen riesgo de sufrir IDD, porque viven en áreas caracterizadas por suelos deficientes en I, el cual ha sido lavado por fenómenos de glaciación, lluvia o inundaciones, tales como la región del Himalaya, la región andina, las vastas montañas de China y el valle del Ganges en India y Bangladesh. La Resolución de la OMS 43/2 adoptó por unanimidad en 1990 en Ginebra un acuerdo para tratar de eliminar los IDD en todos los países alrededor del año 2000. Aunque se han hecho numerosos esfuerzos en los últimos 10 años, los IDD aún están lejos de ser eliminados en muchos países en vías de desarrollo. Así, en 1994 aún existían 1.600 millones de personas con riesgo de deficiencia, de los cuales 656 presentaban bocio y 43 presentaban algún defecto mental con 11,2 millones de cretinos francos.

La deficiencia de I disminuye los depósitos de este elemento en el tiroides y reduce la producción de T_4. Una caída en los niveles plasmáticos de T_4 dispara la secreción de hormona estimuladora del tiroides (TSH), la cual ocasiona hiperplasia de la glándula. La eficacia de la bomba tiroidea de I aumenta, acompañada de un mayor recambio del I tiroideo. Estos hechos fueron demostrados por primera vez en 1954 en los Andes argentinos.

El déficit fetal de I es consecuencia de la deficiencia de I de la madre. La deficiencia de este elemento está asociada a un mayor número de abortos y malformaciones congénitas, las cuales pueden evitarse con la intervención apropiada. Los efectos son similares a los observados en el hipotiroidismo materno, el cual puede tratarse con terapia de reemplazamiento de hormona tiroidea.

Un efecto importante de la deficiencia fetal de I es el cretinismo endémico. Ocurre con ingestas de I < 25 μg/día y en su forma más común se caracteriza por deficiencia mental, mutismo y parálisis bilateral espástica. Éste es el fenotipo neurológico en contraposición al tipo mixedematoso, caracterizado por hipotiroidismo y enanismo. Hay considerables variaciones en las manifestaciones clínicas del cretinismo neurológico dependiendo de las regiones (China, países del Himalaya, países andinos y Zaire). En Zaire es muy frecuente la forma mixedematosa debido al consumo de mandioca. La administración mediante inyección de aceite yodado antes del embarazo reduce y previene en la mayoría de los casos el cretinismo endémico. La desaparición espontánea del bocio endémico y del cretinismo en Europa y en otros países desarrollados se ha debido fundamentalmente a la yodación de la sal y a la diversificación en la ingesta de alimentos que contienen I.

Aparte de la influencia de la deficiencia de I en la mortalidad perinatal, la importancia del estado de la función tiroidea en el periodo neonatal se debe al hecho de que el tamaño del cerebro del lactante es sólo un tercio del adulto y su crecimiento depende del suministro adecuado de I. La deficiencia de I en el periodo neonatal causa defectos mentales reconocidos.

La deficiencia de I en la infancia se asocia a la presencia de bocio y cretinismo. Si la deficiencia de I continúa, el bocio aumenta hasta la adolescencia, donde alcanza su máximo tamaño; las niñas tienen una mayor prevalencia que los niños. El bocio en la edad escolar es un indicador de deficiencia de I en una determinada comunidad y sus efectos son la disminución del cociente intelectual respecto a áreas no deficientes del mismo país.

La toxicidad del I ha sido cuidadosamente estudiada en los humanos y en los animales. Wolf definió cuatro grados de exceso de I en el ser humano. El primer grado consiste en un exceso moderado, caracterizado por que se incrementa de manera temporal la captación de I por el tiroides y la formación de I orgánico, sin inhibición de la capacidad de liberar I en respuesta a las demandas fisiológicas. El segundo grado se caracteriza por que el exceso de I inhibe la liberación de las hormonas tiroideas. El tercer grado inhibe la formación de I orgánico y se origina un proceso de bocio por exceso de I. En el cuarto grado, elevados niveles de I saturan el mecanismo de transporte activo y aparecen efectos tóxicos agudos.

Una ingesta igual o superior a 2 mg/día se considera potencialmente peligrosa para la salud. Usualmente, la dieta no suministra más de 1 mg/día, excepto en algunas poblaciones que ingieren cantidades elevadas de alimentos marinos, como peces o algas, en donde la ingesta puede llegar a 80 mg/día. En estas situaciones la excreción urinaria excede los 20 mg/día, es decir, 100 veces los niveles normales.

El I puede dar lugar a hipertiroidismo; esto ocurre en poblaciones en las que se llevan a cabo programas de enriquecimiento de la sal o el pan y en sujetos mayores de 40 años, aunque la situación remite espontáneamente o se controla con la administración de fármacos antitiroideos. La gota nodular tóxica de desarrollo lento también puede derivar de una exposición excesiva a I por los individuos.

Los individuos con enfermedad autoinmune del tiroides, con bocio nodular o que han sufrido una deficiencia previa en I, son especialmente sensibles a ingestas de I en el entorno de los niveles máximos permitidos de ingesta en la dieta diaria para no efectos adversos, establecido por el IOM en 900-1.100 μg/día **(Tabla 4)**.

El Capítulo 4.35 trata con detalle la nutrición en las enfermedades tiroideas.

7. Otros oligoelementos probablemente esenciales

7.1. Litio (Li)

El Li ha tenido a lo largo de la historia un papel importante en el terreno de la Medicina. Se empleó por primera vez en el tratamiento de la gota y del reumatismo, atribuyéndose la eficacia de las estancias en balnearios a dicho elemento. Esta utilización se relaciona con que el urato de Li es relativamen-

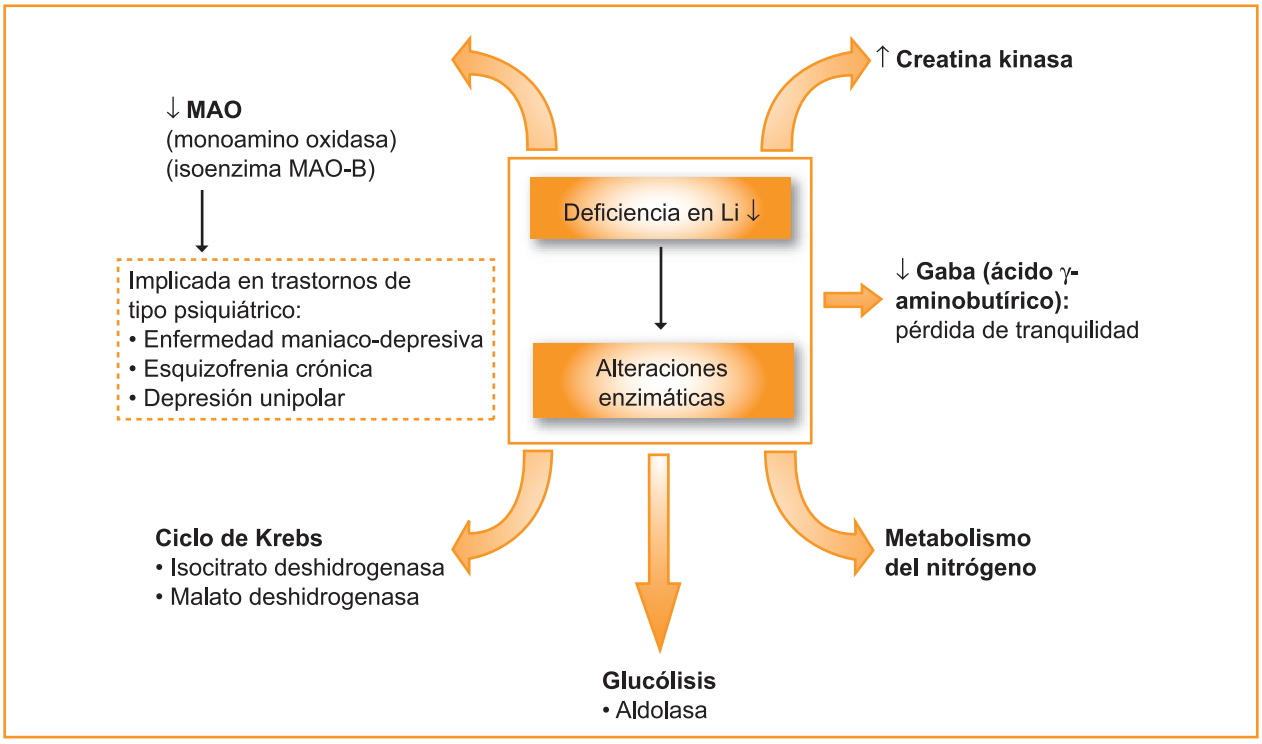


Figura 5. *Alteraciones enzimáticas y del metabolismo ligadas a un estado nutricional deficitario de Li.*

te soluble en comparación con las sales sódica y potásica (principales cationes del plasma) del ácido úrico. A pesar de ello, su uso se abandonó debido a los efectos secundarios tóxicos. También se utilizó en alteraciones cardiacas y renales. En la actualidad, su uso más generalizado se da en el campo psiquiátrico y, sobre todo, en el tratamiento de la depresión endógena, la manía y la psicosis maniaco-depresiva **(Tabla 3)**.

La existencia de enzimas, proteínas, hormonas y otras sustancias dependientes o relacionadas con el Li hace pensar en el papel esencial de este elemento traza. Esta hipótesis ha sido avalada al asociar la deficiencia de Li a un bajo peso al nacer, así como a una disminución en la ganancia de peso durante los 6 primeros meses de vida. Numerosos estudios avalan la idea de que, cuando la ingesta de Li es adecuada, la aparición de ciertas patologías es mucho menor, como se ha observado en ciertas enfermedades cardiovasculares, en desórdenes del comportamiento y/o afectivos, en la depresión del crecimiento y en trastornos en la eficacia reproductiva.

La deficiencia de Li conlleva una disminución en la concentración sérica de este elemento y de varias enzimas **(Figura 5)**. En sangre, se afectan especialmente aquéllas implicadas en el ciclo de Krebs (isocitrato deshidrogenasa y malato deshidrogenasa), en la glucólisis (aldolasa) y en el metabolismo del nitrógeno. También se ha comprobado una disminución de la monoaminooxidasa (MAO), concretamente del isoenzima MAO-B, en pacientes con deficiencia de Li, enzima implicada en disturbios de tipo psiquiátrico (enfermedad maniaco-depresiva, esquizofrenia crónica y depresión unipolar). Únicamente la creatina kinasa, enzima indicadora de estrés, aumenta significativamente en la deficiencia de este elemento. También parece que el Li interfiere con el ciclo de los fosfoinosítidos y probablemente ésta es la base de sus efectos bioquímicos. Así, el Li reduce la concentración celular de mioinositol, aumentando el inositol-1-fosfato. Durante el tratamiento crónico con Li se produce un acúmulo de GABA en el cerebro y es éste probablemente el responsable de los efectos tranquilizantes. En la actualidad, son múltiples las indicaciones psiquiátricas del tratamiento con sales de Li. El uso terapéutico del Li es hoy en día de gran relevancia en este grupo de enfermedades, si bien es un tratamiento que requiere de extremados controles de regulación y seguimiento, por su

estrecho margen de seguridad en relación con la aparición de efectos tóxicos. De hecho, las prescripciones repetidas sin chequeo son peligrosas en terapia con Li.

Numerosos vegetales tienen un alto contenido en Li. Entre ellos, están los tomates, los champiñones, los pepinos, la remolacha, la col, las espinacas y los cereales integrales (> 30 μg de Li/kg); sin embargo, los cereales refinados, y determinadas frutas (manzanas o plátanos) suelen tener un bajo contenido en Li. En general, los alimentos procedentes del reino animal suelen ser más ricos en Li que las plantas, encontrando altas concentraciones en los productos lácteos, los huevos, la carne y el pescado (> 20 μg de Li/kg). Son también ricos en Li el pimentón y el té negro.

La ingesta en la dieta depende de la zona geográfica que se considere y se relaciona con la dureza del agua. Se ha estimado en 60-70 μg de Li/día en las dietas americanas; 102 μg de Li/día en las turcas, y aproximadamente 35 μg de Li/día en las finlandesas. Otros estudios la sitúan en torno a 18 μg de Li/día. Sin embargo, otros autores han cifrado que la ingesta de Li en humanos en Centroeuropa está comprendida entre 660 y 3.420 μg/día, según se considere una dieta pobre o rica en dicho elemento. No obstante, estas cifras parecen estar algo sobreestimadas si se considera que, en general, la ingesta típica diaria en la dieta humana oscila entre 200 y 600 μg/día.

Aun cuando ni los requerimientos dietéticos (RDA y AI) ni los UL han sido todavía establecidos por el IOM, los estudios experimentales apuntan que su posible papel esencial se mantiene incluso con dosis plasmáticas por debajo de 1 ng/ml.

Se ha comprobado que el Li se absorbe por la vía gastrointestinal entre un 95 y un 100% para comprimidos normales de carbonato de Li (Li_2CO_3), a través de las uniones intercelulares (transporte paracelular) y pasa al torrente circulatorio. Es de subrayar que este oligoelemento no es metabolizado por el organismo. En general, el equilibrio de distribución se alcanza entre el 5° y el 7° día. Además, la distribución entre órganos es casi uniforme. Sin embargo, a nivel cerebral, no lo es, siendo la concentración de Li en el hipotálamo y en la materia blanca más elevada. En su distribución el Li no se une a proteínas plasmáticas y atraviesa la barrera placentaria. El Li se distribuye a diversos tejidos y órganos, entre los que destacan el hueso (sobre todo la tibia), el tiroides, la hipófisis y el suero. El pelo y la leche son buenos indicadores del consumo de Li.

La excreción es principalmente renal y depende de la ingesta de sodio y potasio. La reabsorción tubular en el túbulo proximal es del 80% y es paralela a la del sodio, viéndose disminuida en situaciones de carga sódica bicarbonatada, de tratamientos con derivados xánticos o de ciertos diuréticos. Los procesos de aclaración renal de Li son utilizados en muchas ocasiones para estudiar procesos de excreción de otros elementos. Una pequeña parte se excreta por vía biliar.

La deficiencia de Li, como se ha comentado antes, se traduce esencialmente en alteraciones sobre determinadas enzimas. Además, las mujeres que son sometidas a dietas con un bajo aporte de Li muestran alteraciones en la reproducción que se traducen en una tasa mayor de abortos y de mortalidad postparto, no observándose alteración en la tasa de crecimiento.

La toxicidad del Li es aún bastante desconocida. Los niveles séricos normales se sitúan en torno a 2-20 μg/l y parece ser que dosis altas de Li en suero se asocian con efectos tóxicos secundarios que incluyen temblor, vértigo, anorexia, sed y trastornos gastrointestinales como diarrea, náuseas y vómitos, que pueden minimizarse con formas de administración de liberación controlada.

Hay que tener en cuenta que la efectividad del tratamiento con Li en pacientes psiquiátricos exige concentraciones séricas elevadas que alcanzan niveles entre 2,1 y 5,5 mg/l. Por otro lado, los síntomas tóxicos se asocian con niveles de 13,9 mg/l en plasma. Un nivel de 27,8 mg/l puede ser fatal. El bajo índice terapéutico del Li hace énfasis en el cuidado que ha de tenerse en la monitorización de los niveles de este elemento en el tratamiento de pacientes con alteraciones psiquiátricas.

La toxicidad por Li se facilita con una baja ingesta de Na. La toxicidad podría ser precipitada por cambios psicológicos o en la dieta. Al estar la excreción unida íntimamente a la del Na y H_2O, cualquier factor que conlleve reducción de la ingesta de Na o disminuya la excreción urinaria puede conducir a la acumulación de Li y por tanto a toxicidad.

Frecuentemente, durante los tratamientos con este oligoelemento, se inician regímenes dietéticos sin el conocimiento del psiquiatra. Este hecho puede constituir un riesgo añadido, ya que el inicio de una dieta para pérdida de peso, con una reducción

de la ingesta de Na, a la vez, puede dar lugar a intoxicación.

7.2. Silicio (Si)

Desde hace bastante tiempo se sabe que el Si se encuentra en gran proporción en tendones, aponeurosis, piel, tejidos oculares, aorta y sobre todo en huesos. Algunos autores sugirieron su papel como agente antiateromatoso, hecho que probablemente también se relacione con su importancia en el envejecimiento.

Su estrecha relación con el tejido conectivo permite en cierto modo explicar su posible función y, más concretamente, su relación con el colágeno, la elastina y los mucopolisacáridos. Además, el Si es requerido para la actividad prolilhidroxilasa **(Tabla 3)**. Incrementa la actividad de tres enzimas en pulmón de ratas (prolil 4-hidroxilasa, galactosil-hidroxilisil glucosil-transferasa y lisiloxidasa) encargadas de catalizar modificaciones postraduccionales del colágeno. Todo parece presuponer que el Si juega un importante papel en la biosíntesis del cartílago y del hueso. Además, parece que está implicado en etapas iniciales del proceso de formación y calcificación ósea. Aunque el mecanismo aún no es bien conocido, parece deberse a su influencia en la formación de mucopolisacáridos y colágeno, facilitando la formación de glucosaminoglicanos y, por tanto, confiriéndole a dicho elemento un papel estructural.

Por otra parte, los niveles de Si en el tejido osteoide en estadios iniciales de osificación se encuentran aumentados con relación a etapas avanzadas, localizándose el elemento en el interior de la mitocondria del osteoblasto. Sin duda, las alteraciones del cartílago epifisario, consecuencia de un defecto en el crecimiento óseo endocondral, indican que el Si está implicado en la cadena metabólica normal de formación ósea.

También se ha atribuido al Si un papel en el envejecimiento, el cual disminuye los niveles de Si en la pared arterial de la aorta y la dermis. Esta disminución parece estar relacionada con la involución hormonal y con los cambios que acontecen en los glucosaminoglicanos.

Los alimentos más ricos en Si son los granos no sometidos a procesos de refinado y, por tanto, con alto contenido en fibra, cereales y raíces vegetales. Destacan así la avena, el trigo o el maíz. La fuente más concentrada de Si es la cerveza **(Tabla 3)**.

Las ingestas de Si en adultos de Finlandia, Gran Bretaña y EE UU varían entre 21 y 49 mg/día. La ingesta típica en la dieta diaria humana se sitúa entre 20 y 50 mg/día. En cuanto a los requerimientos dietéticos diarios parecen situarse en torno a 20-40 mg de Si/día o bien 100-250 μg de Si/g dieta. No han sido establecidas ni sus RDA ni sus AI, ni tampoco los UL por el IOM, a pesar de venir recogidos en las tablas establecidas por este organismo para los oligoelementos potencialmente esenciales **(Tabla 5)**.

La forma química en que se ingiera a través de la dieta el Si parece influir en la absorción del mismo; el Si de los alimentos se absorbe hasta casi un 50%, mientras que los silicatos insolubles o de baja solubilidad presentan una absorción entre el 1 y el 3% **(Figura 6)**. No se han descrito los mecanismos implicados en la absorción intestinal. La mayor parte del Si que se ingiere no se absorbe. De hecho, se estima que se absorben aproximadamente 11-12 mg de Si/día, de los cuales se eliminan por la orina el 90%. La absorción intestinal en ratas está influenciada por la edad, el sexo y la actividad de varias glándulas endocrinas. El Si no va unido a proteínas en plasma, donde aparece como ácido silícico monomérico no disociado, y se acumula en tejido conectivo incluyendo la aorta, la tráquea, tendones, huesos y piel. La eliminación del Si absorbido es principalmente urinaria probablemente en forma de ortosilicato magnésico; no obstante, la mayor parte aparece en heces, al no absorberse.

Su deficiencia provoca deformidades en los huesos periféricos y craneales, caracterizadas por defectos en el crecimiento del hueso endocondral y de las uniones articulares, reducción del cartílago, glucosaminaglicanos, colágeno y agua.

El Si es un elemento atóxico cuando se ingiere por vía oral; sin embargo, la toxicidad por vía respiratoria es muy importante, dando origen a cuadros de silicosis con afectación del parénquima pulmonar y de la pleura. De hecho, el trisilicato magnésico se ha empleado como antiácido, sin que ello conlleve alteraciones patológicas, considerándose inerte para la especie humana. Otros silicatos se emplean como agentes antiespumantes y como aditivos alimentarios, sin que produzcan efecto nocivo alguno.

Tabla 5. NIVELES MÁXIMOS DE INGESTA TOLERABLE DE LOS OLIGOELEMENTOS POTENCIALMENTE ESENCIALES (B, Si, V y Ni) RECOGIDAS POR EL IOM (2002)

Grupos de edad	B (mg/día)[a]	Si (mg/día)[a]	V (mg/día)[a]	Ni (mg/día)[a]
	UL[b]	UL[b]	UL[b]	UL[b]
Lactantes				
0-6 meses	ND[c]	ND[c]	ND[c]	ND[c]
7-12 meses	ND[c]	ND[c]	ND[c]	ND[c]
Niños				
1-3 años	3	ND[c]	ND[c]	0,2
4-8 años	6	ND[c]	ND[c]	0,3
Varones				
9-13 años	11	ND[c]	ND[c]	0,6
14-18 años	17	ND[c]	ND[c]	1
19-30 años	20	ND[c]	1,8	1
31-50 años	20	ND[c]	1,8	1
50-70 años	20	ND[c]	1,8	1
> 70 años	20	ND[c]	1,8	1
Mujeres				
9-13 años	11	ND[c]	ND[c]	0,6
14-18 años	17	ND[c]	ND[c]	1
19-30 años	20	ND[c]	1,8	1
31-50 años	20	ND[c]	1,8	1
50-70 años	20	ND[c]	1,8	1
> 70 años	20	ND[c]	1,8	1
Embarazo				
≤ 18 años	17	ND[c]	ND[c]	1
19-30 años	20	ND[c]	ND[c]	1
31-50 años	20	ND[c]	ND[c]	1
Lactación				
≤ 18 años	17	ND[c]	ND[c]	1
19-30 años	20	ND[c]	ND[c]	1
31-50 años	20	ND[c]	ND[c]	1

[a] No se han establecido ni las ingestas dietéticas recomendadas (RDA) ni las ingestas adecuadas (AI) para estos oligoelementos.
[b] Niveles máximos de ingesta diaria de los oligoelementos que no suponen efectos adversos para la salud. Representan la ingesta total a partir de agua, alimentos y suplementos consumidos. En su ausencia, como ocurre en el Si, se ha de tener una precaución extra en el consumo de niveles por encima de las ingestas recomendadas.
[c] No determinado por falta de datos sobre los efectos adversos en este grupo de edad, dada la falta de capacidad para manejar cantidades en exceso. La fuente de la ingesta deberían ser sólo los alimentos para prevenir altos niveles de ingesta.
Fuente: Institute of Medicine de EE UU, 2002.

7.3. Vanadio (V)

La relación del V con las ATPasas o su posible papel como agente insulinomimético hicieron que a partir de la década de los 70 varios grupos de investigación se plantearan la hipótesis del papel esencial de dicho elemento, evidencias que han sido más significativas desde 1987. No obstan-

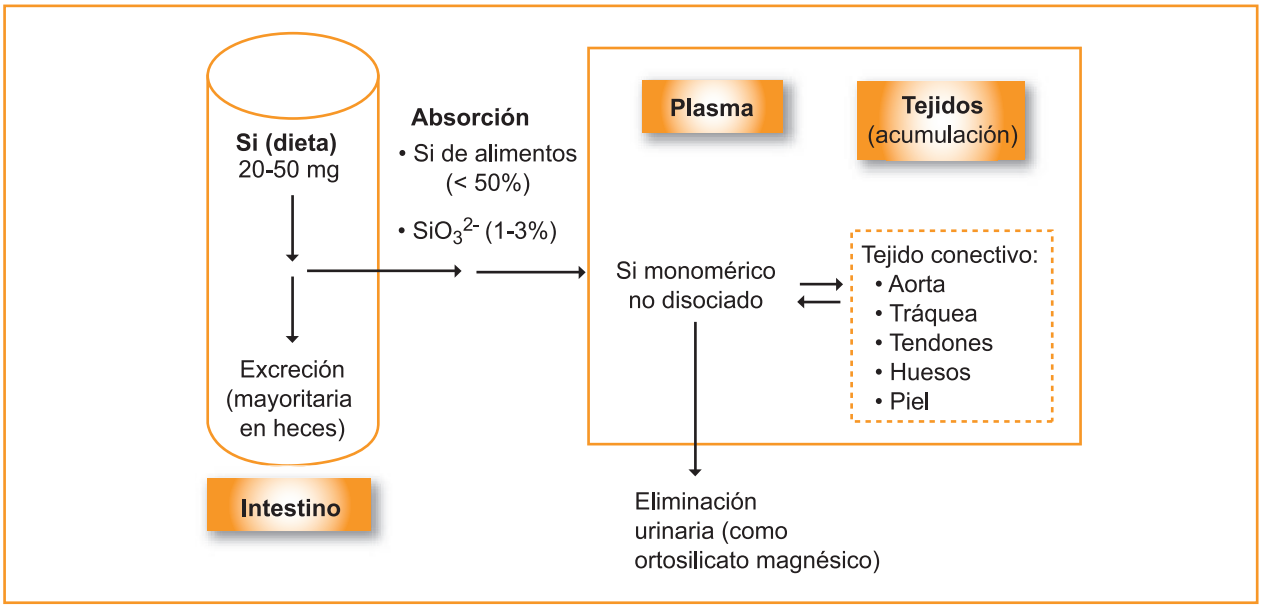


Figura 6. *Cinética y metabolismo del Si.*

te, algunos ensayos experimentales se llevaron a cabo con dietas suplementadas en una gran cantidad, lo que determinó alteraciones importantes.

Hasta el momento la función bioquímica tan sólo ha sido descrita en algas, líquenes, hongos y bacterias, pero no en animales superiores y, por tanto, no en el ser humano. Se cree que pueda tener un papel digno de consideración en la regulación de la NaK-ATPasa, fosforiltransferasa, adenilciclasa y proteína kinasas **(Tabla 3)**. El V interviene en varias enzimas, entre las cuales destacan las haloperoxidasas, que catalizan la reacción de oxidación de iones haluro por el peróxido de hidrógeno. En el caso de animales, las haloperoxidasas mejor conocidas son las peroxidasas tiroideas. Se ha comprobado que la deficiencia de V en ratas afecta a la peroxidasa tiroidea y, por tanto, la concentración de I, el cual parece tener una estrecha relación en su regulación metabólica con los niveles de V.

Además, existen evidencias que sugieren que la unión del ión V a proteínas no hemo que contienen hierro es importante en el metabolismo del V.

Tan sólo un grupo reducido de alimentos contienen cifras importantes de V (> 30 μg/kg) como las espinacas, las setas, los moluscos (almejas y ostras), el perejil, la pimienta negra (hasta 987 μg de V/kg), semillas de eneldo y ciertos alimentos preparados. Como alimentos de contenido intermedio (> 5-30 μg/kg) cabe destacar los granos, los alimentos marinos, carnes y productos lácteos. Por el contrario, las grasas, los aceites, frutas y vegetales contienen los niveles más bajos (< 1-5 μg de V/kg).

Se admite que la ingesta de V se sitúa en torno a 10-30 μg/día. Los lactantes de 6 a 11 meses incorporan aproximadamente 3 μg/día, mientras que los adolescentes suelen ingerir alrededor de 11 μg/día. Se piensa que una ingesta diaria de 10 μg cubre las necesidades basales de dicho elemento. Las RDA no han sido establecidas. Si embargo, el IOM ha fijado un UL de 1,8 mg/día a partir del grupo de 19 años de edad **(Tabla 5)**.

La absorción gastrointestinal de V es muy escasa y se estima del orden de 1-5% del ingerido, con influencia, principalmente, del estado de valencia, ya que la absorción del vanadato es superior a la del vanadilo. La absorción tiene lugar en el duodeno. Se ha sugerido que el vanadato se absorbe a través de sistemas de transporte de aniones, como el del fosfato, mientras el vanadilo usa el sistema de transporte del hierro **(Figura 7)**. Con posterioridad, se distribuye a la sangre, desde donde rápidamente aparece en el riñón, hígado, testículos, bazo y muy especialmente en los huesos, donde se acumula el exceso. La excreción se realiza a través de las heces a excepción del V absorbido, que es eliminado mayoritariamente por la orina. Una porción relativamente importante es eliminada por vía biliar.

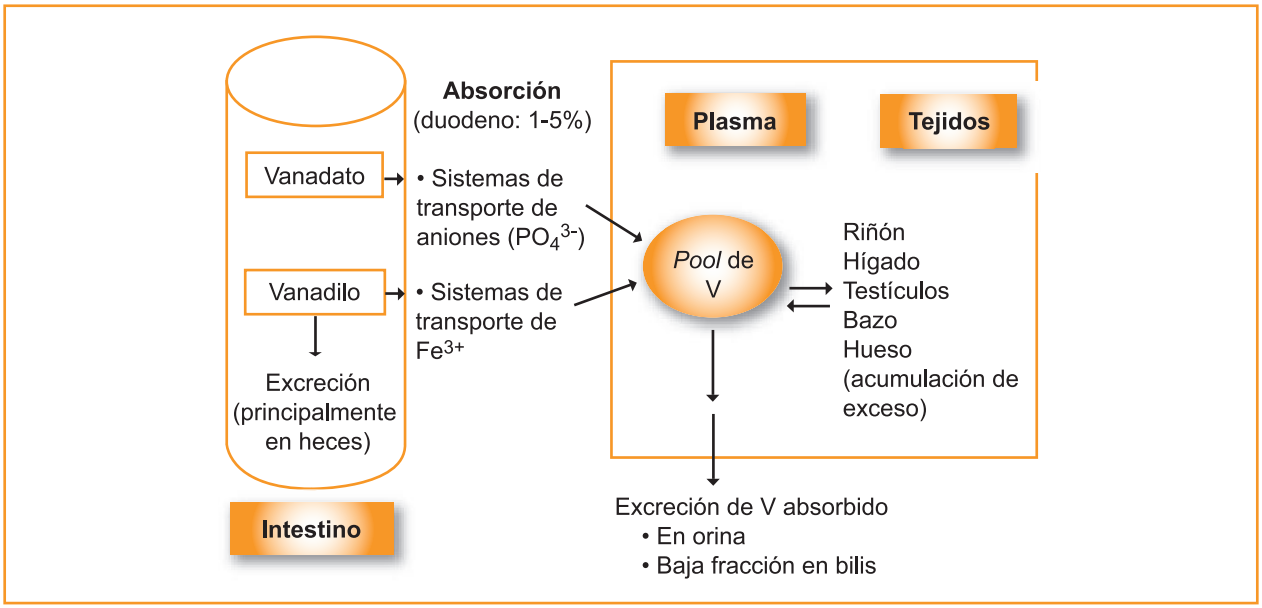


Figura 7. *Cinética y metabolismo del V.*

La deficiencia de V en animales produce una elevación en la tasa de abortos y una disminución de la producción de leche durante los dos primeros meses de lactancia, así como diversas alteraciones séricas tales como aumento de creatinina y β-lipoproteínas y una disminución de glucosa. Se acompaña, además, de alteraciones orgánicas como, por ejemplo, deformidades en el esqueleto (sobre todo, en las patas delanteras y en las uniones del tarso, las cuales sufren un adelgazamiento).

El V es un elemento relativamente tóxico a concentraciones entre 10-20 mg/día o 10-20 μg/g en la dieta. La administración oral de dosis tóxicas de V conlleva determinados síntomas y signos, entre los que se encuentran la lengua verdosa, calambres y diarrea. Otros autores concluyen que es neurotóxico y endoteliotóxico-hemorrágico con afectación hepática y renal, y probablemente leucocitotóxico. También suelen aparecer retraso en el crecimiento, diarrea y anorexia.

7.4. Níquel (Ni)

Desde comienzos del siglo XX se conoce el papel tóxico del Ni, especialmente desde el punto de vista dermatológico, originando dermatitis (eczema de contacto), así como su papel carcinogénico (riesgo de cáncer nasal y pulmonar). Sin embargo, algunos autores, en estudios llevados a cabo sobre diversos animales de experimentación (gallinas, ratas, cerdos, etc.), han observado que el Ni puede tener un posible papel esencial en el metabolismo y un efecto positivo sobre la anemia **(Tabla 3)**. Además, su deficiencia se ha relacionado con un retraso en el desarrollo y un proceso de hematopoyesis deprimida, por lo que en la actualidad se considera que es un elemento traza esencial para la nutrición humana.

El Ni parece tener un papel como cofactor o componente estructural de metaloenzimas específicas, presentes sobre todo en plantas y microorganismos. Así, se ha comprobado que la deficiencia de Ni afecta en gran medida al metabolismo y, más concretamente, a determinadas enzimas implicadas sobre todo en la glucólisis, el ciclo del citrato y el metabolismo de los aminoácidos **(Figura 8)**. Entre estas enzimas cuantificadas en hígado y riñón principalmente, se encuentran las deshidrogenasas de glucosa 6-fosfato, lactato, isocitrato, malato y glutamato, reductasas, y alanina y aspartato aminotransferasas. También se afectan los niveles tisulares de fosfolípidos y triglicéridos, urea, glucosa, glucógeno y ATP. Este oligoelemento estimula la secreción de glucagón, y se compleja con los ácidos desoxirribonucleico (DNA) y ribonucleico (RNA), y sus enzimas reguladoras.

En microorganismos anaerobios, el Ni forma parte del cromóforo F_{430} de la metil-CoA re-

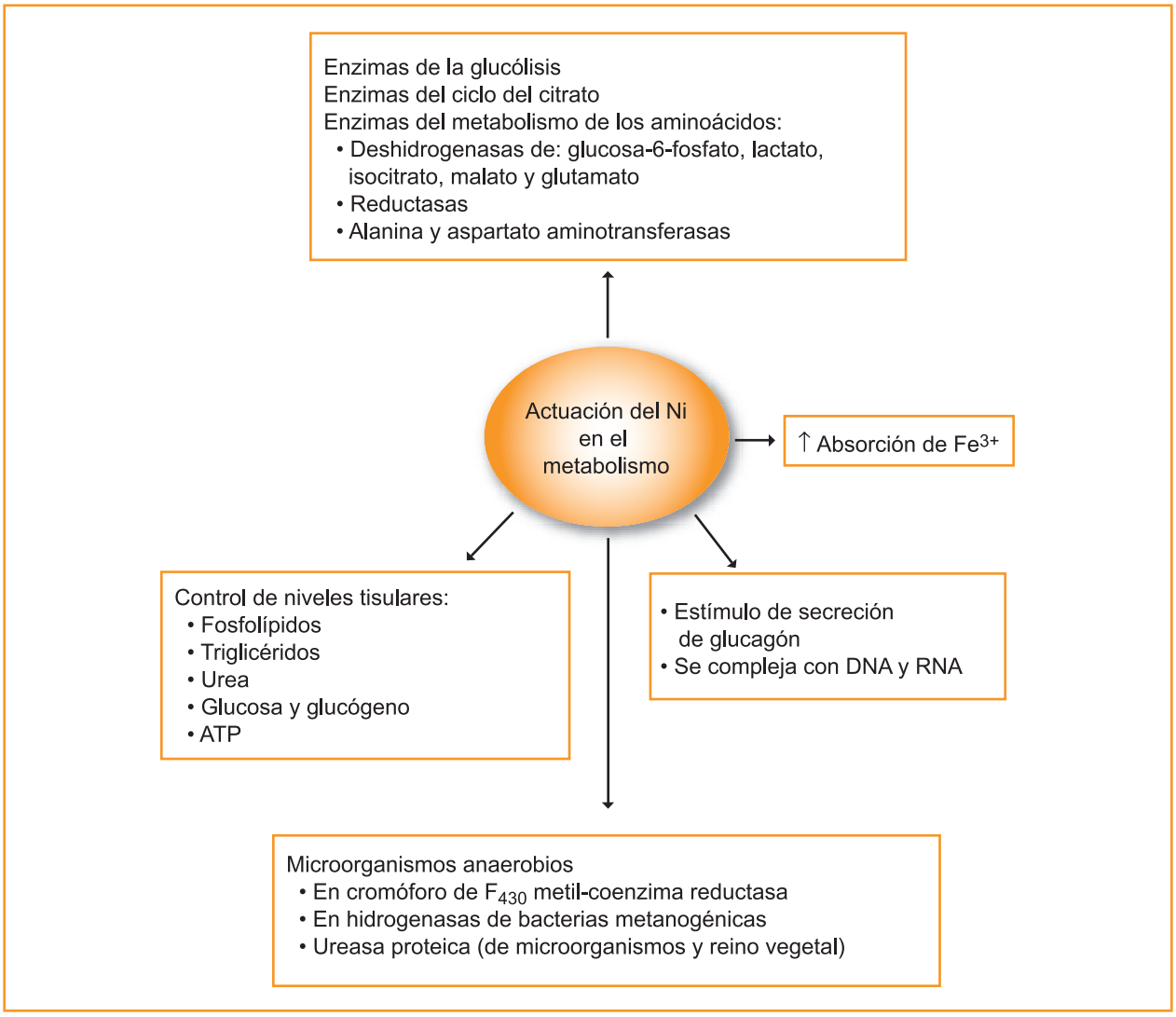


Figura 8. *Acciones fisiológicas del Ni en el metabolismo.*

ductasa, enzima responsable de la formación de metano. Además, se conoce el posible papel activador del Ni en las hidrogenasas de algunas bacterias metanogénicas, así como su participación en la ureasa proteica presente en el reino vegetal y en microorganismos, constituida por varias subunidades, de las cuales cada una contiene Ni en el centro activo.

El Ni parece ser esencial en las reacciones enzimáticas de hidrogenación, desulfuración y carboxilación en la mayoría de los microorganismos anaeróbicos. También se cree que el Ni puede actuar como cofactor facilitador de la absorción intestinal de hierro férrico, al favorecer la unión de éste a moléculas liposolubles y actuar como cofactor del sistema enzimático encargado de su reducción al estado ferroso.

Los alimentos procedentes del reino animal poseen menor concentración de Ni que las plantas, dentro de las que las frutas frescas también constituyen un grupo de alimentos cuyo contenido en este oligoelemento es relativamente bajo (4-39 μg/kg). Entre los alimentos más ricos en Ni con niveles comprendidos entre 125 y 400 μg de Ni/kg, está el chocolate, las especias, los frutos secos (nueces), las legumbres (alubias), las verduras y edulcorantes. También, es de reseñar el alto contenido en golosinas y alimentos estimulantes. Alimentos con un contenido intermedio en

Ni (50-125 μg/kg) son los derivados cárnicos, huevos, productos lácteos, y los cereales y pastas. Los productos pesqueros son fuentes pobres en Ni en la alimentación con concentraciones < 50 μg/kg.

Las ingestas en la dieta diaria de este elemento son muy variables. Están directamente condicionadas por la localización geográfica de los alimentos consumidos, los componentes nutritivos de la ración, la proporción de alimentos de origen animal y vegetal, el procesado de alimentos, la contaminación medioambiental y/o la migración que durante el procesado y almacenamiento de los alimentos tiene lugar desde los contenedores y distintos utensilios de cocina de acero inoxidable (que contienen entre un 18 y un 37% de Ni). Se han indicado niveles de ingesta de este elemento que han fluctuado entre 67, 70 y 82 μg/día en Japón, Suecia y Suiza, respectivamente, hasta 460 y 600 μg/día en Canadá y EE UU. En España se han determinado ingestas de Ni cifradas entre 99 y 180 μg/día.

En el caso de lactantes de 6 a 11 meses, la ingesta suele ser de unos 70 μg/día. En algunos individuos sensibilizados, se desarrolla una reacción alérgica a concentraciones de 600 μg/día, por lo que el margen de seguridad toxicológica es relativamente estrecho, considerando dosis seguras las situadas entre 100 y 300 μg/día, especialmente, en los adultos, y de la mitad en los lactantes. El UL ha sido establecido por el IOM en 1 mg de Ni/día **(Tabla 5)**.

Parece claro que los requerimientos de Ni en la especie humana, o, lo que es igual, el papel esencial del Ni, es una hipótesis plausible, teniendo en cuenta su función en el reino animal. Se estima que los requerimientos dietéticos de Ni en humanos son del orden de 100 μg/día, con una biodisponibilidad media en las dietas convencionales comprendida entre el 1 y el 10%.

La absorción se realiza tanto por el tracto gastrointestinal como por vía respiratoria, y depende del compuesto de Ni incorporado a través de la dieta. Está influenciada por la concentración de otros iones divalentes y cationes que actúan como ligandos, destacando especialmente el Zn, Cu y Ca, así como por diversos factores tales como el sexo, la edad, la gestación y lactancia, la tasa de crecimiento y la dieta (leche, café, té, zumo de naranja, etc., que disminuyen su absorción). Usualmente, no se absorbe más del 20-25% de la dosis ingerida, siendo la absorción de Ni un proceso activo, en el que parece intervenir el sistema de absorción del hierro. Aunque es difícil interpretar la naturaleza exacta de la interacción entre el Ni y el Fe, se sabe que en situaciones deficitarias de Ni se produce una reducción de la absorción de Fe, mientras que la deficiencia del Fe estimula la absorción del Ni.

En la distribución del Ni a los tejidos interviene en gran medida la albúmina (la mayor parte del Ni plasmático esta combinado con esta proteína) y también la niquelplasmina, que es una α_2-macroglobulina. Probablemente, el Ni forme complejos con la L-histidina, cisteína, ácido aspártico y ácidos nucleicos; otra fracción se transporta asociada a moléculas ultrafiltrables. No parece que existan tejidos u órganos que acumulen de forma especial Ni; no obstante, en humanos se han encontrado mayores concentraciones en las glándulas adrenales y tiroides, así como en hígado, riñón, pulmón y sistema nervioso central (SNC). Este elemento tiene la facultad de pasar a través de la placenta, pudiendo afectar al feto. La principal vía de eliminación del Ni absorbido es la renal; sin embargo, la excreción fecal es mayoritaria, teniendo en cuenta que la mayor parte no se absorbe (el 90% de la cantidad ingerida). También existen altas concentraciones en sudor corporal, por lo que es probable que a través de las glándulas sudoríparas se elimine una cantidad significativa (del orden de 49 μg/l).

Los signos derivados de la deficiencia en Ni han sido puestos de manifiesto en numerosas especies animales, entre las que destacan las cabras, los cerdos, las ratas y las ovejas. Cuando la deficiencia en Ni es importante, disminuye el crecimiento y la hematopoyesis. También aparece afectación de varias metaloenzimas específicas, como se ha citado anteriormente al comentar su papel fisiológico, lo que sugiere que este elemento representa un papel importante en el metabolismo intermediario.

En general, se admite que la toxicidad tanto aguda como crónica del Ni es baja, dependiendo en parte de la solubilidad de los compuestos. La toxicidad aguda suele manifestarse en forma de irritación gastrointestinal, dolor de cabeza frontal, vértigo, insomnio, irritabilidad y trastornos pulmonares análogos a los producidos por la neumonía vírica. La intoxicación crónica puede ser causa de exacerbación de procesos patológicos además de traducirse en retraso en el crecimiento, así como problemas en la reproducción y alteraciones en parámetros sanguíneos tales como disminución de la

hematopoyesis -número de eritrocitos, nivel de hemoglobina y hematocrito-, de actividades enzimáticas, edemas, etc., afectándose también el hígado, riñones, cápsulas suprarrenales, bazo y cerebro.

Los sujetos con hipersensibilidad al Ni, resultante de exposiciones previas a este elemento, y con alteración en el funcionamiento del riñón, son particularmente sensibles a los efectos deletéreos derivados de una ingesta excesiva.

Existe un elevadísimo riesgo de cáncer de pulmón y de nariz asociado a exposiciones elevadas a este metal. Parece ser que el mecanismo indirecto relacionado con este efecto es debido a que el elemento inhibe las defensas celulares contra procesos de peroxidación, mediados por la catalasa, la superóxido dismutasa, la glutatión peroxidasa, etc., entre otras enzimas que protegen frente a los radicales libres y el estrés oxidativo.

Se sabe que una dieta que aporte 250 μg de Ni/g produce signos de toxicidad que incluyen retraso en el crecimiento y anemia en animales de experimentación. No obstante, en humanos se ha comprobado que la administración oral de 600 μg de sulfato de Ni produce una reacción alérgica positiva en la piel de algunos individuos que presentan una sensibilización al Ni. En este sentido, este elemento, entre los metales e incluso al compararlo frente a otros muchos alergenos, es el que con mayor frecuencia produce sensibilizaciones por contacto manifestadas en forma de alergia, como es la dermatitis por contacto. Esta alergia inducida por bisutería, se manifiesta en mayor medida en épocas de mayor calor y sudoración en personas sensibles.

7.5. Boro (B)

Aunque hasta el momento presente la esencialidad del B para el ser humano no ha sido establecida, se acepta su carácter esencial en animales y plantas. El B forma complejos con varios sustratos con grupos hidroxilos, preferentemente cuando son adyacentes y se encuentran en posición -*cis*, actuando como regulador del metabolismo **(Tabla 2)**. Este elemento desempeña un papel en la función o estabilidad de la membrana celular, influyendo en la respuesta a la acción de hormonas, señales a través de membrana o intercambio de cationes a través de la misma.

El B tienen capacidad de competición con algunas enzimas por el coenzima nicotín adenín dinucleótido (NAD^+) y la adenina. Manifiesta también una acción en el hueso semejante a los estrógenos, estando relacionado con el desarrollo de osteoporosis. También se han caracterizado cinco compuestos orgánicos ésteres de B, de acción antibiótica, sintetizados de forma natural por varias bacterias, entre los que destacan la aplasmomicina aislada de *Streptomyces griseus* (cepa SS-20) y boromicina, sustancia sintetizada por *Streptomyces antibioticus*. Esta segunda sustancia tiene la facultad de captar cationes de metales alcalinos, elevando la permeabilidad al K^+ de la membrana.

Entre las sustancias orgánicas con las que el ácido bórico forma complejos éster a través de los grupos hidroxilo, destacan la riboflavina, piridoxina, ácido deshidroascórbico, adenosina 5'-fosfato y nucleótidos pirimidínicos. Los complejos formados tienen la facultad de actuar en algunas enzimas inhibiendo su acción, como ocurre con las serina proteasas.

Las principales fuentes de B son los alimentos de origen vegetal, donde destacan las legumbres, las frutas no cítricas, las verduras, los frutos secos (nueces), legumbres (cacahuetes), patata y aguacate. La mayoría de los alimentos contienen menos de 6 mg de B/kg, con un elevado número de ellos por debajo de 0,5 mg de B/kg. Otras fuentes interesantes son las bebidas fermentadas de origen vegetal, como la sidra, la cerveza y el vino. Son fuentes pobres en B los alimentos de origen animal (carne, pescado y productos lácteos).

La ingesta diaria típica de B por el ser humano fluctúa entre 0,5 y 3,5 mg de B/día. A pesar de ello, parece ser que las necesidades diarias de este elemento están comprendidas entre 0,5 y 2,5 mg/día. De hecho, los estudios animales han establecido que una ingesta de 1 mg de B/día es beneficiosa. Sin embargo, no se han establecido todavía las recomendaciones dietéticas; no obstante, el IOM ha fijado un UL de 20 mg de B/día **(Tabla 5)**.

Con independencia de la forma en que aparece el B en los alimentos, éste se absorbe en más de un 90% del total ingerido. La mayor parte del B ingerido se convierte en $B(OH)_3$, que es la forma en que se absorbe, posiblemente por difusión pasiva, y transporta por todo el organismo. El hueso constituye su principal lugar de almacenamiento, desde donde se incorpora a la metalotioneína, que es el

almacén y vehículo de transporte a la vez de este elemento. La excreción urinaria rápida del B absorbido constituye el principal mecanismo para la regulación de su homeostasis. Su eliminación fecal es escasa, debido al alto grado de absorción.

En el material biológico, el B sólo existe asociado al oxígeno, constituyendo el ácido bórico (98,4%), que actúa como ácido de Lewis, aceptando del agua un par de electrones para transformarse en la forma tetracovalente de este elemento [$B(OH)4^-$], que es minoritaria (1,6%).

Las deficiencias en B en el ser humano se han observado fundamentalmente en dos estudios: uno en mujeres menopáusicas con o sin tratamiento estrogénico asociado y otro en varones de edad en torno a 45 años. Estos individuos siguieron previamente una dieta de muy bajo contenido en B (0,25 mg/2.000 kcal aproximadamente durante 2 meses). Transcurrido este periodo, los sujetos consumieron la misma dieta, pero suplementada con 3 mg/día de B (aproximadamente durante 1 mes y medio), lo que facilitó una elevación de los niveles de Cu en plasma y también de 17-β-estradiol en suero; además, mejoró la alerta mental, la conducta y el rendimiento psicomotor, así como los procesos relacionados con la atención y la memoria.

El déficit de B produce alteraciones en el metabolismo del Ca, Mg y P, la función cerebral y en el metabolismo energético; además, se relaciona con la aparición de somnolencia, y descenso de la alerta mental y de las habilidades psicomotoras.

El B presenta baja toxicidad al administrarse por vía oral. Como signos de intoxicación aguda destacan las alteraciones gastrointestinales (vómitos, diarreas y náuseas), dermatitis, letargo, convulsiones y anormalidades del electro-encefalograma (EEG), además de inducir la riboflavinuria. Las dosis fatales de ácido bórico y el bórax son de 15-20 g en adultos. Los signos asociados de toxicidad crónica por este oligoelemento contemplan la pérdida de peso ligado a la falta de apetito y náuseas, disminución de la apetencia sexual y de la eficacia reproductiva, con un descenso del volumen seminal y de la motilidad de los espermatozoides.

8. Resumen

- En este Capítulo se estudian en profundidad la mayor parte de los oligoelementos o elementos traza, que son aquellos que se necesitan para el normal funcionamiento del organismo en cantidades de mg o μg/día. Para un elevado número de ellos, como el Se, Mn, Cr, Mo e I, la esencialidad en el ser humano ha sido claramente establecida. Para los restantes oligoelementos incluidos en este Capítulo, como el Li, Si, V, Ni y B, su carácter esencial se ha puesto de manifiesto en las últimas décadas en microorganismos, plantas y animales, fundamentalmente por el aumento considerable de la sensibilidad de las técnicas analíticas espectroscópicas de absorción y emisión atómica.

- La mayor parte de estos minerales forma parte del centro activo de muchas enzimas necesarias en el metabolismo normal del organismo, por lo que un déficit en el estado nutricional en éstos se traduce en la alteración de la actividad enzimática. Como consecuencia, se producen una serie de patologías como la cardiomiopatía endémica o enfermedad de Keshan o la osteoartropatía endémica o enfermedad de Kashin-Beck, ambas ligadas a la deficiencia en Se; o bien el bocio o el cretinismo endémico asociados al déficit de I. Es de reseñar el uso terapéutico del Li en alteraciones psiquiátricas graves del ser humano como la depresión endógena, la manía y la psicosis maniaco-depresiva.

- Para cada uno de los oligoelementos se han descrito sus principales funciones fisiológicas; sus fuentes alimenticias más relevantes, incluyendo la influencia que el tratamiento tecnológico puede tener en el contenido de algunos de estos elementos traza, como es el aumento del I presente en los alimentos debido al uso de yodóforos, o el incremento del Ni y del Cr por su migración a los alimentos procesados o almacenados en recipientes o utensilios de cocina de acero inoxidable, o bien la pérdida de parte del Cr existente durante el refinado de los cereales o del azúcar, etc. Posteriormente, se ha estudiado su cinética y metabolismo, haciendo alusión a su principal vía de absorción (paracelular por difusión pasiva, o intracelular con transporte activo y gasto energético), factores influyentes como es la interacción con otros componentes de la dieta o con otros minerales, y la biodisponibilidad asociada, forma de transporte por el organismo, indicando cuáles son los principales órganos en los que se almacena, y sus principales vías de excreción.

- Se describen también sus ingestas habituales en la alimentación humana que han servido de base al IOM para fijar las RDA, AI y niveles superiores de ingesta sin aparición de signos o efectos adversos, para todos los oligoelementos, con la excepción del Li, que no ha sido todavía incluido en las tablas elaboradas por el IOM.

- También se han descrito las patologías y sintomatología características, asociadas tanto a un consumo deficiente, responsable de un estado nutricional subóptimo en cada oligoelemento, como a una sobreexposición que origina una toxicidad aguda o crónica, como, por ejemplo, los problemas de selenosis, silicosis o fenómenos de dermatitis por contacto producidos por el Se, Si y Ni a altas dosis, respectivamente.

9. Bibliografía

Anderson JJB. Minerales. En: Mahan LK, Escott-Stump S (eds.). Nutrición y Dietoterapia de Krause, 10ª ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 2001; Capítulo 5: 120-65.
Se abordan los aspectos nutricionales más relevantes de todos los minerales, considerando los ultraoligoelementos (I, Se, Mn, Cr, Mo y B) desde el punto de vista de sus fuentes alimenticias y consumo, cinética, funciones, consumos alimentarios de referencia, deficiencia y toxicidad.

Brody T. Inorganic nutrients. En: Brody T. Nutritional Biochemistry, 2nd ed. Academic Press. San Diego, CA, 1999; Chapter 10: 693-878.
Libro básico que considera en profundidad los efectos biológicos, las enzimas en las que actúan como cofactores, las ingestas, los aspectos fisiológicos y bioquímicos, así como los efectos asociados a un consumo deficiente o excesivo fundamentalmente del Se y el I.

Gil A, Gil F. Oligoelementos: yodo, zinc, cobre, selenio, manganeso, molibdeno, cromo y cobalto. En: Tojo R (ed.). Tratado de Nutrición pediátrica. Doyma. Madrid, 2001; Capítulo 16: 229-43.
Revisón actual del papel de los oligoelementos considerados en la Nutrición pediátrica.

Institute of Medicine (IOM). Food and Nutrition Board (FNB). Dietary Reference Intake Tables: Elements' Table. The National Academic Press, 2002.
Estas tablas recogen las ingestas dietéticas recomendadas, las ingestas adecuadas y los niveles de ingesta superiores tolerables, para todos los oligoelementos, salvo el Li. También incluye la función, fuentes, efectos adversos por consumo excesivo y consideraciones especiales de éstos.

Institute of Medicine (IOM). Food and Nutrition Board (FNB). Dietary References Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. The National Academic Press, 2002.
En esta publicación se recogen las ingestas dietéticas de referencia y su determinación para los elementos esenciales B, Cr, I, Mn, Mo, Ni, Si y V, clasificándose según el grupo de edad y sexo (lactantes, niños, varones adultos y hembras adultas), y estado fisiológico (embarazo y lactancia).

Institute of Medicine (IOM). Food and Nutrition Board (FNB). Dietary References Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. The National Academic Press, 2002.
Incluye las ingestas dietéticas de referencia y el proceso para su establecimiento para el Se como elemento antioxidante, clasificándose a lo largo del ciclo vital según el grupo de edad y sexo (lactantes, niños, varones adultos y mujeres adultas), y estado fisiológico (embarazo y lactación).

Mataix Verdú J, Llopis J. Minerales. En: Mataix Verdú (ed.). Nutrición y alimentación humana. Ergon. Madrid, 2002; Capítulo 9: 211-46.
Recoge los minerales esenciales en nutrición humana, de los que, tras una breve introducción, establece el contenido corporal, funciones, absorción y metabolismo, ingestas recomendadas, fuentes alimentarias, deficiencia y toxicidad para el Se, Cr, Mn y Mo, con menor profundidad para el B, Si y Li.

Navarro-Alarcón M, López-Martínez MC. Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. Sci Total Environ 2000; 249: 347-71.
Es una revisión y actualización sobre la esencialidad del Se en seres humanos, destacando sus niveles en alimentos e ingestas, suplementación, biodisponibilidad, y papel en la génesis y progresión de enfermedades como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes y hepatopatías.

Samman S, Thomson C, Robinson M, Gibson R. Trace elements. En: Mann J, Truswell AS (eds.). Essentials of Human Nutrition. Oxford University Press. Oxford, 1998; Chapter 10: 152-78.
Libro básico que recoge las perspectivas históricas de los elementos traza, química, distribución, deficiencia, funciones, absorción y excreción, biodisponibilidad y fuentes alimenticias, recomendaciones dietéticas, control del estado nutricional y toxicidad, sobre todo de Se, Mn, Mo, I y Cr.

Seiler HG, Sigel H. Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds. Marcel Dekker, Inc. New York, 1987.
Libro básico de toxicología que recoge los aspectos más relevantes de todos los elementos de la tabla periódica, centrándose en su química, distribución, comportamiento en el ser humano, deficiencia y toxicidad, así como en los medios disponibles para llevar a cabo su destoxificación.

Shills ME, Olson JA, Shike M, Ross A (eds.). Nutrición en salud y enfermedad, 9ª ed. Volumen 1. MacGraw-Hill Interamericana. Madrid, 2002.
Libro básico que incluye 4 capítulos referentes al Se, Cr, I y minerales ultratraza (B, Mn, Mo, Ni, Si, V y Li), estudiando su historia, formas químicas, actividad biológica, aspectos dietéticos, metabolismo, funciones, deficiencia, evaluación del estado nutricional, requerimientos y toxicología.

Stipanuk MH (ed.). Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition. WB Saunders Company. Philadelphia, 2000.
Es un libro básico que incluye 3 capítulos referentes al Se, I y los elementos ultratraza (principalmente B, Cr y Mo). Establece su importancia nutricional y fisiológica, sus formas bioquímicas y metabolismo, sus acciones fisiológicas y mecanismos implicados, y sus consideraciones dietéticas.

Strain JJ, Cashman KD. Minerals and trace elements. En: Gibney MJ, Vorster HH, Kok FJ (eds.). Introduction to Human Nutrition. Backwell Science. Oxford, 2002; Chapter 9: 177-224.
Este capítulo define los elementos esenciales, estableciendo sus funciones y rutas metabólicas en el organismo, recomendaciones y fuentes dietéticas, efectos en la salud y síntomas en ingestas deficitarias y tóxicas, y métodos de control del estado nutricional (entre ellos, el Se, I, Mn, Mo y Cr).

Villa Elízaga I, Navarro Blasco I, Martín Pérez A. Elementos traza. En: Hernández Rodríguez M, Sastre Gallego A (eds.). Tratado de Nutrición. Díaz de Santos. Madrid, 1999; Capítulo 14: 229-47.
Define y clasifica los elementos traza; aborda sus funciones fisiológicas y requerimientos nutricionales, y la influencia de los oligoelementos en la salud humana, donde considera el estudio de la bioquímica y funciones metabólicas, deficiencia, manifestaciones clínicas y toxicidad del Mn y Se.

10. Enlaces web

- www.nap.edu
- www.iom.edu/report.asp?id=8521
- www.fao.org/docrep/U5900t/u5900t05.htm
- www.senba.es
- www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/encyclopedia_T-Tn.htm

1.31. Nutrigenómica. Regulación de la expresión génica mediada por nutrientes y otros componentes alimentarios

Ángel Gil Hernández ■ Óscar Constantino Chagoyán Thompson

Capítulo 1.31.

Nutrigenómica. Regulación de la expresión génica mediada por nutrientes y otros componentes alimentarios

1. Introducción

2. Nutrigenómica

2.1. Interacciones entre dieta, genoma y salud

2.2. Influencia de los componentes de la dieta sobre la expresión génica

2.3. Herramientas de la Nutrigenómica

3. Regulación de la expresión génica por hidratos de carbono

3.1. Enzimas hidrolíticas

3.2. Transportadores de glucosa

3.3. Insulina

3.4. Genes metabólicos

3.4.1. Metabolitos señal

3.4.2. Secuencias *cis* y factores *trans* involucrados en la respuesta a la glucosa

3.4.3. L-piruvato kinasa

3.4.4. Acetil-CoA carboxilasa

3.4.5. Glucosa-6-fosfatasa

4. Regulación de la expresión génica por lípidos

5. Regulación de la expresión génica por aminoácidos y otros compuestos nitrogenados

5.1. Aminoácidos

5.1.1. Gen *CHOP*

5.1.2. Gen de la asparragina sintetasa (AS)

5.1.3. Control del inicio de la traducción por la biodisponibilidad de aminoácidos

5.1.4. Regulación de la expresión de factores de crecimiento por aminoácidos y otros nutrientes

5.2. Compuestos nitrogenados no proteicos

5.2.1. Poliaminas

5.2.2. Nucleótidos

6. Regulación de la expresión génica por vitaminas y minerales

6.1. Vitaminas

6.2. Minerales

7. Regulación de la expresión génica por otros componentes alimentarios
7.1. Factores proteicos de la leche humana
7.2. Isoflavonas
7.3. Esfingolípidos

8. Resumen

9. Bibliografía

10. Enlaces web

Objetivos

- Caracterizar los mecanismos moleculares por los que los nutrientes influyen sobre la expresión de los genes en el ser humano.
- Dar a conocer el nuevo concepto de nutriente desde el punto de vista de la Nutrigenómica.
- Identificar las herramientas que utiliza la Nutrigenómica para caracterizar la interacción nutriente-genoma a diferentes niveles.
- Conocer los fundamentos de la regulación génica mediada por glucosa.
- Identificar los principales genes glucolíticos y lipogénicos cuya expresión se modula por la glucosa.
- Comprender los mecanismos moleculares por los que los lípidos modulan la expresión génica.
- Conocer los principales genes involucrados en la regulación de la expresión génica por los aminoácidos.
- Entender las bases por las que diferentes compuestos nitrogenados de naturaleza no proteica, como los nucleótidos de la dieta y las poliaminas, regulan la expresión de numerosos genes.
- Identificar los principales genes cuya actividad se regula por vitaminas y minerales.

1. Introducción

Las diferencias fenotípicas que distinguen a los distintos tipos celulares en los seres vivos superiores se deben en gran medida a la expresión diferencial de numerosos genes que codifican proteínas. La expresión génica puede estar regulada en una serie de pasos secuenciales que incluyen al menos cinco puntos de control: activación de la estructura génica, iniciación de la transcripción, procesamiento del RNA transcrito de forma primaria en el núcleo, transporte del RNA al citoplasma y traducción del RNA en la proteína correspondiente (*ver Capítulo 1.7*).

Tradicionalmente se ha asumido que la expresión de genes en los eucariotas no estaba influenciada directamente por los nutrientes, sino por la acción de hormonas, factores de crecimiento y citokinas. Sin embargo, la dieta representa un potente mecanismo para modificar el ambiente celular de numerosos órganos. Así, durante los últimos años se han encontrado numerosas evidencias de que los cambios ambientales provocados por los nutrientes y otros componentes de los alimentos en el entorno celular modifican la expresión de numerosos genes. Este hecho abre la perspectiva de modificar la expresión génica, tanto en sujetos sanos como enfermos, a través de la manipulación de la dieta. No obstante, es preciso aclarar que, aunque la modulación directa de la expresión génica por nutrientes es un hecho incontrovertible, la influencia principal de los nutrientes sobre el genoma se lleva a cabo a través de la acción de las hormonas, factores de crecimiento y citokinas.

En las bacterias y en las levaduras es bien conocido que los nutrientes modifican la expresión génica. Por ejemplo, la adición de lactosa al medio de cultivo de *E. coli* da lugar a la inducción de las proteínas de transporte e hidrólisis de la lactosa por aumento de la expresión del operón *lac*. Sin embargo, en los seres superiores los mecanismos de la expresión génica son mucho más complejos y se necesita identificar qué genes responden directamente a nutrientes específicos o a otros componentes de los alimentos.

La Nutrigenómica es la ciencia que explica los mecanismos moleculares por los que los componentes de los alimentos, tanto nutrientes como otros compuestos químicos, afectan a la salud de los individuos a través de la alteración de la expresión de genes o de su estructura. Tanto los nutrientes mayoritarios (glucosa, aminoácidos y ácidos grasos) como los minoritarios (vitaminas y minerales) participan de forma concertada con muchas hormonas en la regulación de la expresión génica en respuesta a cambios nutricionales.

Asimismo, otros componentes de los alimentos, tanto abióticos (carotenoides, compuestos fenólicos, contaminantes ambientales, aditivos, etc.), como bióticos

(microorganismos implicados en los procesos fermentativos de carácter probiótico) pueden modular la expresión de numerosos genes causando efectos deseables o indeseables para la salud.

La regulación de la expresión génica por nutrientes u otros componentes de los alimentos requiere en primer lugar que determinadas enzimas, transportadores, receptores o factores de transcripción reconozcan el compuesto específico, lo que da lugar a una sucesión de mecanismos celulares que finalmente modifican los procesos de transcripción o traducción génica.

En el presente Capítulo se revisan los aspectos fundamentales de la Nutrigenómica y se detallan algunos efectos de los macro y micronutrientes sobre la expresión génica. Asimismo, se indican algunos efectos de otros componentes minoritarios de los alimentos sobre la modulación de la expresión de genes particulares.

2. Nutrigenómica

La Nutrigenómica es la ciencia que trata de facilitar una explicación a nivel molecular de cómo los nutrientes y otros componentes de los alimentos interaccionan con el conjunto de genes de un individuo, además de su repercusión sobre el estado de salud.

Las bases conceptuales de esta rama de la investigación genómica se pueden resumir en:

1. Los componentes de los alimentos actúan en el genoma humano, directa o indirectamente, alterando la expresión o la estructura genética.

2. Bajo ciertas circunstancias y en algunos individuos, la dieta es un factor de riesgo importante para un número de enfermedades.

3. Algunos genes regulados por la dieta y sus variantes comunes normales, probablemente jueguen un papel en el inicio, incidencia, progresión y/o severidad de las enfermedades crónicas.

4. El grado con el que la dieta influye en el balance entre los estados de salud y enfermedad puede depender de la composición genética individual.

5. La intervención basada en el conocimiento del requerimiento nutricional, estado nutritivo y genotipo (nutrición individualizada) puede ser utilizada para prevenir, mitigar y curar la enfermedad.

Tal y como la Farmacogenómica ha evolucionado hacia el concepto de "medicamento personalizado" y los "fármacos de diseño", la Nutrigenómica abre el camino a la "nutrición personalizada". Es decir, conociendo el estado nutricional de un sujeto, sus necesidades nutricionales particulares y su genotipo, la Nutrigenómica debe proporcionar, en un futuro no muy lejano, un patrón de alimentación personalizado que conduzca a un estado de mejora de salud y de bienestar, ajustando de forma precisa su dieta con su dotación genética específica.

La nutrición inadecuada es un factor ambiental importante que contribuye al desarrollo de enfermedades en todo el mundo. El consumo excesivo de algunos nutrientes, especialmente de grasas saturadas y de azúcares simples, así como las deficiencias de algunos micronutrientes, pueden causar problemas serios de salud tales como enfermedad coronaria, aterosclerosis, diabetes, cáncer y defectos congénitos. No obstante, y a pesar de los esfuerzos de los gobiernos de los países desarrollados para informar sobre cómo llevar a cabo una buena nutrición, algunas enfermedades como la obesidad y otras patologías relacionadas, continúan aumentando su prevalencia. Por otra parte, las recomendaciones de ingesta se basan en estudios que no reflejan la individualidad de las poblaciones. Es decir, a menudo se asume que todos los individuos responderán igual a la intervención dietética y se beneficiarán por igual de las recomendaciones dietéticas y de las políticas nutricionales.

Durante el siglo pasado los objetivos de la investigación nutricional fueron la identificación de los nutrientes y de los efectos que su carencia ocasiona en el metabolismo intermediario, el crecimiento y el mantenimiento y desarrollo de las células y de los tejidos. Los estudios realizados llevaron a la formulación de recomendaciones de ingesta dietética (RDA) para cada nutriente, que cubren al 95% de los individuos de una población sana, y con ello se logró la erradicación de múltiples enfermedades deficitarias como la pelagra, el beriberi, el escorbuto, etc.

En la actualidad, la tecnología de la era genómica ha proporcionado nuevas y poderosas herramientas, posibilitando a los científicos cambiar el enfoque reduccionista tradicional de investigar los efectos de un solo nutriente sobre un sistema biológico por uno mucho más amplio, en donde

se pueden explorar los efectos moleculares de uno o varios nutrientes en organismos biológicos completos.

A partir de los datos proporcionados por el proyecto del genoma humano y a partir del conocimiento de polimorfismos genéticos de un solo nucleótido (SNP: ***S**ingle **N**ucleotide **P**olimorphism*), se ha constatado que existen ciertas variaciones genéticas en los individuos que alteran las interacciones entre los componentes de la dieta y las respuestas metabólicas, lo que conduce a una mayor o menor susceptibilidad al desarrollo de determinadas enfermedades. Esta variación genética interindividual cuestiona hasta qué punto las recomendaciones dietéticas, usualmente basadas en estudios epidemiológicos, son válidas para todos los grupos raciales y étnicos.

En definitiva, la Nutrigenómica representa un enfoque multidisciplinar y multidimensional para reconocer que la variación genética individual puede exacerbar el efecto de la dieta en el desarrollo de enfermedad, y que la intervención dietética basada en el conocimiento del estado nutricional, los requerimientos nutricionales y el genotipo, lo que se ha llamado "nutrición inteligente", puede remediar o mejorar la sintomatología de la enfermedad.

De acuerdo con este nuevo concepto, se ha propuesto que el término nutriente debe ser aplicado a "todo aquel constituyente de la dieta, completamente caracterizado (física, química y fisiológicamente), natural o diseñado, que sirva como sustrato energético, precursor de moléculas u otros componentes necesarios en la diferenciación, crecimiento, renovación, reparación, defensa y /o mantenimiento de la célula, o bien a todo aquel que funcione como molécula de señalización, cofactor, determinante de alguna función, estructura molecular y/o como promotor de la integridad de las células y de los órganos". Con esta larga definición, además de la función metabólica que cumplen los nutrientes, se destaca la influencia que tienen en los procesos de transcripción, postranscripción y traducción del DNA, así como de las funciones resultantes. No obstante, es necesario reconocer que las interacciones entre el genoma y los nutrientes puede variar a través del ciclo de la vida, y que además puede tener una profunda influencia en el mantenimiento de la salud y en la prevención de las enfermedades de los individuos.

2.1. Interacciones entre dieta, genoma y salud

La idea de que las interacciones adversas dieta/genoma pueden causar enfermedad no es nueva. La galactosemia y la fenilcetonuria son ejemplos de ello, ya que ambas enfermedades son de rasgo genético simple, pueden ser diagnosticadas en forma temprana y son manejadas con éxito mediante la utilización de dietas especiales. Sin embargo, muchas enfermedades crónicas son de naturaleza poligénica y resultan de interacciones de un subconjunto de genes con factores ambientales.

La asociación entre la ingestión de alimentos específicos y enfermedad crónica se observó por primera vez en conejos alimentados con huevo, carne y leche, que desarrollaron lesiones arteriales parecidas a las de la aterosclerosis en humanos, y estudios epidemiológicos posteriores muestran repetidamente asociaciones entre la ingestión de alimentos y la incidencia y severidad de las enfermedades crónicas.

Gracias a la investigación genómica, actualmente se conoce que la gran mayoría de la información genética humana es compartida por todos los individuos de nuestra especie. Si se consideran dos sujetos cualesquiera, comparten el 99,9% de la secuencia del DNA, es decir, una variación cada 100 pares de bases. Muchas de estas variaciones son SNP y éstos, individualmente o como grupos, alteran la regulación de la expresión de los genes afectados, el procesado del mRNA y las actividades de las proteínas y enzimas sintetizadas. Por tanto, cada individuo puede desencadenar respuestas únicas a factores ambientales basadas en una combinación de SNP en su DNA genómico.

De igual manera, todos los grupos raciales y étnicos comparten la mayoría de las variaciones genéticas. Las pequeñas diferencias que existen son responsables de la diversidad humana, tal como los colores de la piel y del pelo, la altura y el peso corporal, etc. Algunas de estas pequeñas diferencias revisten variaciones importantes bajo el punto de vista médico, ya que modifican la susceptibilidad al desarrollo de algunas patologías.

Ciertas poblaciones minoritarias presentan una elevada incidencia de algunas enfermedades crónicas respecto a las poblaciones mayoritarias, tales como obesidad, diabetes, asma, enfermedades cardiovasculares (ECV) y ciertos tipos de cáncer.

Por ejemplo, los norteamericanos de origen africano tienen un 60% mayor de riesgo que los de descendencia europea para desarrollar cáncer de próstata. Asimismo, estudios epidemiológicos como el NHANES III (*the third **N**ational **H**ealth **a**nd **N**utrition **E**xamination **S**urvey*) han demostrado que las mujeres afroamericanas y mejicanas mayores de 50 años, y los hombres afroamericanos presentan un mayor riesgo de ECV.

Uno de los mejores ejemplos de interacciones entre la dieta y el genotipo es la diabetes de tipo 2, que ocurre frecuentemente en los individuos sedentarios y obesos y en ciertos grupos minoritarios como los indios Pima. Una vez diagnosticada la diabetes, algunos individuos pueden controlar los síntomas aumentando la actividad física y reduciendo la ingesta calórica, especialmente, de grasa. En estos casos, la expresión de la información genética es cambiada por el ambiente. Sin embargo, otros individuos son refractarios a dichos cambios ambientales y necesitan tratamiento con medicamentos.

Numerosas enfermedades crónicas no muestran la flexibilidad metabólica observada en la diabetes de tipo 2, es decir, los síntomas no revierten después del inicio de la enfermedad. No obstante, las interacciones del genotipo y de la dieta contribuyen a la incidencia y gravedad de muchas enfermedades como obesidad, cáncer, aterosclerosis, asma, etc. La **Tabla 1** muestra algunos de los genes asociados con la diabetes de tipo 2.

Aunque algunos factores ambientales como la dieta, la actividad física y el alcohol desempeñan un papel importante en el establecimiento de las concentraciones de triglicéridos en sangre, tanto los triglicéridos como los niveles de colesterol asociados a las partículas de lipoproteínas de baja densidad (LDL: ***L**ow **D**ensity **L**ipoproteins*) están muy influenciados por la variabilidad genética. En el caso de los genes que influyen sobre los patrones de subclases de LDL, las interacciones de la dieta con los genes contribuyen en gran medida a explicar las diferencias interindividuales de los efectos de las dietas bajas en grasa y con elevado contenido de hidratos de carbono sobre el riesgo de enfermedad cardiaca.

La intolerancia a la lactosa es otro ejemplo de las interacciones genoma-dieta. En esta patología, el consumo de leche y de algunos productos lácteos como leche evaporada, leche en polvo y productos elaborados con estos ingredientes, da lugar a la aparición de dolores digestivos acompañados de náuseas, gases y diarrea. Los datos epidemiológicos indican que la frecuencia de la intolerancia a la lactosa varía ampliamente dependiendo de la zona geográfica, edad, raza y etnia **(Tabla 2)**.

Investigaciones recientes han identificado un polimorfismo SNP (C/T13910) en un lugar 14kb corriente arriba del gen que codifica para la lactasa, en un *locus* del brazo largo del cromosoma 2 (2q21). Esta variante, identificada inicialmente en nueve familias finlandesas muy extendidas, es la responsable de la tolerancia a la lactosa. Es decir, los miembros de estas familias pueden consumir leche y derivados lácteos sin ninguna complicación. El polimorfismo situado en el gen promotor de la lactasa altera las interacciones de una proteína reguladora que interacciona con el DNA.

Actualmente, se conocen 11 polimorfismos en el gen de la lactasa agrupados en cuatro haplotipos denominados A, B, C y U. El haplotipo A, que confiere tolerancia a la lactosa, tiene una frecuencia del 86% en la población del norte de Europa, pero únicamente del 36% en las poblaciones del sur. Las culturas que beben leche fresca tienen usualmente una mayor frecuencia de este haplotipo, y la persistencia del polimorfismo confiere ventajas selectivas como una mejor nutrición, prevención de la deshidratación y mejora del estado nutricional del calcio.

La aparición del polimorfismo asociado a la persistencia de lactasa parece que tuvo lugar en un periodo relativamente reciente, hace 10.000-12.000 años, coincidiendo con la domesticación de los animales. El descubrimiento de esta variante hace posible individualizar las intervenciones dietéticas en la infancia, aplicando un test genético para la intolerancia a la lactosa.

Otro ejemplo de interacción entre dieta y el genoma está en los procesos inflamatorios. La inflamación es una parte esencial de la respuesta corporal a la infección, la cirugía y el trauma, desempeñando un importante papel en la muerte de los patógenos con la creación de un ambiente tisular hostil mediante la producción de moléculas oxidantes y la activación de linfocitos T y B. Asimismo, el organismo libera mediadores químicos derivados del proceso inflamatorio entre los que se encuentran tres potentes citokinas proinflamatorias [interleukinas 1 (IL-1) y 6 (IL-6), y el factor

Tabla 1. GENES CANDIDATOS EN LA DIABETES DE TIPO 2

Gen mutado	Función	Efecto	Vinculado a
HNF-4-α, *HNF-1β*, *IPF-1*, *NeuroD1*	Factores de transcripción	↓ Secreción de insulina	Diabetes humana MODY
HNF-1-α	Factor de transcripción	↓ Secreción de insulina	Diabetes MODY Oji-Cree
Glucokinasa	Metabolismo de la glucosa	↓ Secreción de insulina	MODY
Calpaína-10	Proteasa	Desconocida	Diabetes 2 en mexicanos y afroamericanos
PPAR-γ	Factor de transcripción	↓ Sensibilidad a la insulina	Diabetes 2
Receptor de insulina	Transmisión de la señal de insulina a las células	↓ Secreción y sensibilidad a la insulina	Diabetes humana (raro) Modelo de ratón
IRS1 y *2*	Señalización celular	↓ Sensibilidad a la insulina	Ratones modelo
Akt2	Señalización celular	↓ Sensibilidad a la insulina	Ratones modelo
11-β-HSD	Síntesis de glucocorticoides	↑ Lípidos plasmáticos ↓ Secreción de insulina	Ratones modelo
UCP-2	↓ Síntesis de ATP	↓ Secreción de insulina	Ratones modelo
Resistina	Adipocitokina	↓ Sensibilidad a la insulina	Ratones modelo
Adiponectina	Adipocitokina	↑ Sensibilidad a la insulina	Estudios en humanos y ratones

*IRS: sustrato del receptor de la insulina (***I**nsulin **R**eceptor **S**ubstrate*); HNF: factor nuclear de los hepatocitos (***H**epatocyte **N**uclear **F**actor*); 11-β-HSD: hidroxiesteroide deshidrogenasa; MODY: diabetes del adulto de comienzo temprano en los jóvenes (***M**aturity-**O**nset **D**iabetes in the **Y**oung Human*); PPAR-γ: receptor activado por proliferadores de los peroxisomas (***P**eroxisome **P**roliferator **A**ctivated **R**eceptor*); UCP-2: proteína desacoplante de la fosforilación oxidativa (**Unc**oupling **P**rotein-**2**).*
Fuente: adaptado de Marx. Science *2002; 296: 686-9.*

de necrosis tumoral α (TNF-α)] (*ver Capítulos 1.4, 1.35, 4.17, 4.26 y 4.30*).

Recientemente, se ha observado que los SNP en los genes responsables de producir las moléculas involucradas en los procesos inflamatorios ejercen un efecto modulador sobre la intensidad de la inflamación.

También se ha demostrado que tanto las citokinas pro como las antiinflamatorias son influenciadas por diferencias en el genotipo.

Varias moléculas oxidantes, especialmente radicales libres de oxigeno, activan la producción del factor de transcripción denominado factor nuclear kappa B (NF-κB), y la variabilidad genética influye en la capacidad de algunos individuos de producir moléculas oxidantes que determinan la activación del NF-κB, el cual incrementa la producción de citokinas y la expresión de las moléculas de adhesión, todo lo cual aumenta el riesgo de lesión en el huésped.

La proteína 1 de macrófagos asociada a la resistencia natural (NRAMP1: ***N**atural **R**esistance **A**ssociated **M**acrophage **P**rotein **1***) tiene efectos sobre la producción de TNF-α y la activación de la sintetasa inducida por óxido nítrico (iNOS), existiendo cuatro variantes del gen de NRAMP1, donde los alelos

Tabla 2. PORCENTAJE DE HIPOLACTASIA EN DIFERENTES RAZAS Y ETNIAS

Raza, etnia y país de origen	Hipolactasia
Asiáticos del sudeste	98%
Asiáticos norteamericanos	90%
Esquimales	80%
Adultos afroamericanos	79%
Mexicanos de comunidades rurales	73,8%
Judíos norteamericanos	68,8%
Greco-chipriotas	66%
Cretenses	56%
Varones mexicanos en Norteamérica	55%
Adultos de India	50%
Niños afroamericanos	45%
Niños de India	20%
Caucásicos de Europa del norte	5%

Fuente: adaptado de Enattah et al. Nat Genet *2002; 30: 233-7.*

1,2 y 4 son pobres promotores, y el alelo 3 causa una elevada expresión génica. La hiperactividad de los macrófagos, asociada al alelo 3, se relaciona con susceptibilidad a enfermedades autoinmunes y alta resistencia a la infección, mientras que el alelo 2 incrementa la susceptibilidad a la infección y protege contra las enfermedades autoinmunes.

Existen también moléculas que suprimen la producción de citokinas proinflamatorias y ejercen una influencia antiinflamatoria; éstas incluyen las defensas antioxidantes y la interleukina 10 (IL-10). Hay al menos tres sitios polimórficos (-1082, -819 y -592) en el promotor de la IL-10 que influyen su producción, y los SNP también ocurren en genes que codifican enzimas involucradas en la defensa antioxidante, como la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa, los cuales influencian su actividad.

Los polimorfismos en los genes de las citokinas pueden jugar un papel en la longevidad mediando las respuestas individuales al estímulo inflamatorio. Por ejemplo, la posesión de alelos altamente productores de IL-10 disminuye la morbilidad y la mortalidad al tener un efecto protector contra la inflamación crónica.

Un método para reducir el estrés inflamatorio es el consumo de alimentos que suprimen la producción de citokinas proinflamatorias (aceite de pescado) o actúan como antioxidantes (vitamina E). El mecanismo por el que el aceite de pescado disminuye la respuesta inflamatoria es múltiple ya que, a nivel metabólico, los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 limitan la producción de eicosanoides derivados del ácido araquidónico, que son proinflamatorios, pero a nivel genético intervienen en la supresión de la producción de TNF-α y en la activación de algunos factores de transcripción como el receptor activado por proliferadores de los peroxisomas (PPAR: ***P****eroxisome* ***P****roliferator* ***A****ctivated* ***R****eceptor*). La vitamina E es un antioxidante que también modifica la producción de citokinas. Esta vitamina suprime la producción de superóxido y de otros radicales libres de oxígeno.

Otro ejemplo de interacciones entre genoma y dieta lo constituyen los micronutrientes. Las deficiencias de los aproximadamente 40 micronutrientes (vitaminas y minerales) necesarios para el desarrollo del ser humano, se asocian a numerosas enfermedades. Muchas de las deficiencias de micronutrientes se deben a la ingesta de una dieta pobre, pero aproximadamente 50 enfermedades genéticas pueden atribuirse a polimorfismos enzimáticos. Estas últimas pueden remediarse o mejorarse administrando elevados niveles de la vitamina o del coenzima correspondiente. Los cambios en las concentraciones de coenzima pueden contribuir a una mayor unión de ésta a la apoenzima de afinidad alterada por un polimorfismo determinado. Algunos ejemplos de SNP incluyen los genes de la metilén-tetrahidrofolato reductasa (*MTHFR*) (*C677T*) y el FAD, en relación con la enfermedad cardiovascular y las migrañas, la NAD(P) quinona oxidorreductasa 1 (*C609T*) y el FAD, en relación con el cáncer, la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (*C131G*) y el $NADP^+$, en relación con el favismo y la anemia hemolítica, la aldehído deshidrogenasa *E487K*, presente en la mitad de los asiáticos, y el NAD^+, en relación con la intolerancia al alcohol, la enfermedad de Alzheimer y el cáncer.

El enfoque de la dieta como un factor para determinar la estabilidad genómica es más importante de lo que se había imaginado previamente debido al impacto que los alimentos tienen en todas las vías relevantes, como la exposición, la activación y desactivación de carcinógenos, la síntesis y reparación del DNA y la apoptosis. Por ejemplo, la deficiencia dietética de micronutrientes necesarios para el mantenimiento del DNA puede producir efectos similares a las enfermedades heredadas genéticamente que dañan la actividad de las enzimas requeridas para la estabilidad genómica y pueden alterar el DNA de forma similar a la exposición a carcinógenos y a la radiación. El ajuste de las ingestas dietéticas de micronutrientes para algunos individuos con genotipos similares y edades puede minimizar el daño al DNA cromosómico y mitocondrial, observado en numerosas alteraciones relacionadas con las deficiencias de micronutrientes, optimizando la salud, prolongando la calidad de vida y previniendo el riesgo de comienzo temprano de ciertos cánceres y otras enfermedades degenerativas asociadas con la edad.

2.2. Influencia de los componentes de la dieta sobre la expresión génica

Numerosos estudios han documentado que los nutrientes y otros compuestos químicos de la dieta influencian los procesos fisiológicos. Esto ocurre, en parte, porque se altera la expresión o estructura de un conjunto de genes del genoma humano. Los componentes de los alimentos afectan a la expresión génica de forma directa o indirecta por las siguientes vías **(Figura 1)**:

1. Actúan como ligandos de receptores que son factores de transcripción.

2. Son metabolizados alterando la concentración de sustratos o de metabolitos intermediarios en diversas vías.

3. Sirven como moléculas señalizadoras.

La modulación de la expresión génica por nutrientes es un mecanismo de adaptación que permite a los organismos sobrevivir en unas condiciones en las que el aporte de alimentos se realiza de forma intermitente. La glucosa, que es el monosacárido más abundante en la naturaleza, supone un buen ejemplo de cómo los organismos han desarrollado mecanismos para hacer frente a este aporte discontinuo de nutrientes. En levaduras, la glucosa facilita su propio uso induciendo la expresión de genes implicados en su metabolismo a la vez que reprime aquellos que participan en la utilización de otras fuentes de carbono como fuente de energía. En mamíferos, la respuesta es más compleja ya que, además del efecto directo de la glucosa, hay que tener en cuenta los efectos derivados de cambios hormonales propiciados por la propia glucosa.

En las células β del páncreas, la glucosa es el principal estímulo fisiológico para la secreción de insulina, así como para la disminución en la secreción de glucagón. En el hígado existen genes que requieren elevadas concentraciones tanto de glucosa como de insulina, como son L-piruvato kinasa (*L-PK*), acil-CoA carboxilasa (*ACC*) o ácido graso sintasa (*FAS*). Otros, como el gen de la fosfoenolpiruvato carboxikinasa (*PEPCK*), ven disminuida su expresión tanto por insulina como por glucosa de forma independiente. Finalmente, el gen de la glucosa-6-fosfatasa disminuye su expresión en presencia de insulina y, paradójicamente, la aumenta en presencia de glucosa.

2.3. Herramientas de la Nutrigenómica

Para poder caracterizar la interacción nutriente-genoma a diferentes niveles es necesario generar diversos biomarcadores apropiados. La **Metilómica** se encarga del estudio de las modificaciones en el estado de metilación del DNA entre los individuos. La **Transcriptómica** se encarga de evaluar la influencia de los componentes de los alimentos sobre la expresión de diferentes mRNA; la **Proteómica**, del conjunto de proteínas celulares generadas por la lectura de los distintos mRNA. El siguiente nivel es la **Metabolómica,** que estudia la influencia de uno o varios nutrientes u otros componentes de los alimentos sobre los procesos metabólicos en las células. La integración de los procesos celulares y de los tejidos en el organismo en su conjunto es abordado por la **Fisiómica/ Fenomenómica;** y, por último, la caracterización completa de un grupo de población se lleva a cabo por la **Populómica**.

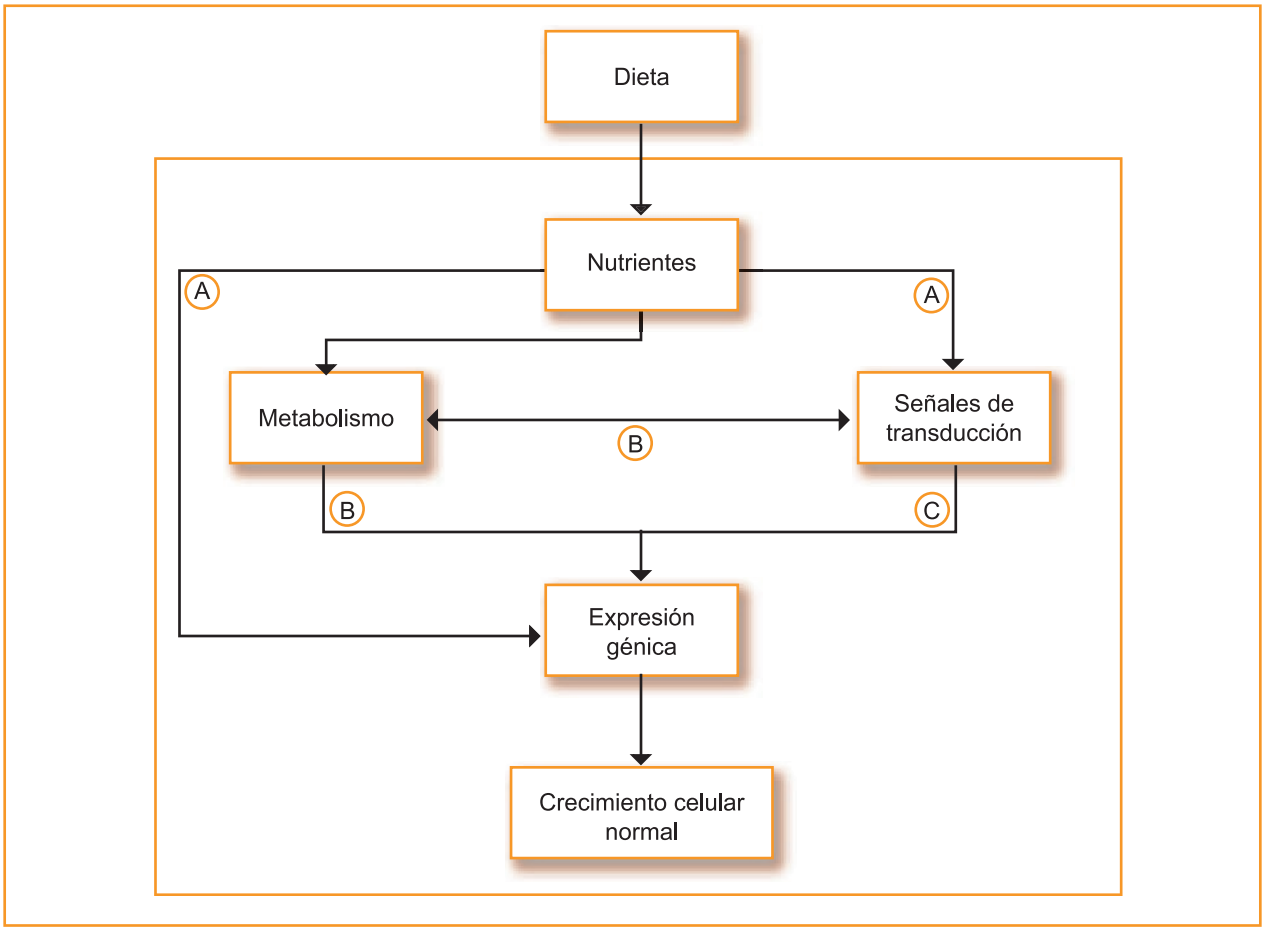


Figura 1. *Influencia de los nutrientes en la expresión génica. A: acción directa del nutriente como ligando para receptores de factores de transcripción; B: modificación de las concentraciones de sustratos o intermediarios al ser metabolizados en vías primarias o secundarias; C: afectación positiva o negativa de las vías metabólicas mediante la regulación génica o la señalización celular. Fuente:* Physiol Genomics *2004; 16: 166-77.*

Los niveles de análisis para determinar la interacción entre genes y nutrientes se muestran en la **Tabla 3**.

Asimismo, en la **Figura 2** se presenta el proceso mediante el cual se llega a la obtención de estos biomarcadores; en el centro se representan, en forma sintetizada, los pasos involucrados en la expresión génica, a la izquierda los sitios específicos en los cuales los nutrientes pueden modular los procesos, y a la derecha las técnicas genómicas que son actualmente utilizadas para la búsqueda y obtención de los mencionados biomarcadores, cuya función principal es la de reflejar los cambios sutiles que ocurran en la homeostasis y los esfuerzos realizados por el organismo a través de sus sistemas celulares, órganos o interacciones interorgánicas, para mantener esta homeostasis.

En la Genómica se utilizan técnicas de secuenciación para la identificación de polimorfismos; en la Metilómica se emplean análisis de series de fragmentos de DNA para determinar su estado de metilación; en la Transcriptómica se utilizan técnicas de evaluación de los mRNA presentes en un determinado tejido mediante microchips de DNA y RT-PCR cuantitativa, y en la Proteómica se detecta la población de proteínas presentes en una muestra mediante técnicas de cromatografía bidimensional seguida de análisis adicionales como la espectrometría de masas. Asimismo, en la actualidad, se está trabajando para que la evaluación del metabolismo del individuo se pueda realizar mediante técnicas

Tabla 3. NIVELES DE ANÁLISIS DE INTERACCIÓN GENOMA-NUTRIENTES

Nivel	Definición	Ejemplo de análisis
1. Genoma	Impresión genómica	Secuenciación de nucleótidos
2. Metiloma	Modificaciones de la mutilación del DNA	Análisis de microseries
3. Transcriptoma	Expresión del RNAm	Ensayos de hibridación
4. Proteoma	Conjunto(s) de proteínas celulares	Espectrometría de masa, cromatografía en gel bidimensional, modificaciones postranscripcionales
5. Metaboloma	Metabolitos de bajo peso molecular en células/ órganos	Sistemas analíticos micrototales (μTAS), infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (NMR)
6. Fisioma/fenomenoma	Integración cuantitativa de los procesos celulares y de órganos	Variables celulares, órgano y sistemas corporales completos, con énfasis en modelos de flujo y balance de masa
7. Populoma	Caracterización nutricional completa de un grupo de población, utilizando las técnicas 1 a 6	Lo que sea relevante de lo anterior más datos de la dieta y socioculturales

Fuente: J Nutr *2003; 133 (Suppl): 3830-6.*

que midan la mayor cantidad de metabolitos a través de muestras simples y pequeñas, cuyos resultados constituyan datos cuantitativos rigurosos con los que sea posible realizar mapas metabólicos y hacer comparaciones tanto en individuos como en poblaciones con un costo lo más bajo posible. Por el momento, son tres los tipos de tecnología utilizados para el análisis metabólico-genético: la espectroscopia con resonancia magnética nuclear (NMR), la espectrometría de masas (MS) y las técnicas clásicas de cromatografía gas líquido (GLC) y líquido-líquido de alta eficacia (HPLC).

3. Regulación de la expresión génica por hidratos de carbono

Aunque en el Capítulo 1.9, en el apartado correspondiente a la regulación del metabolismo de los hidratos de carbono, se ha comentado la regulación coordinada de la glicólisis y gluconeogénesis tanto por hormonas como por glucosa, en este apartado se comenta de manera específica cómo este nutriente puede afectar la expresión génica de numerosos genes implicados en la digestión, absorción y metabolismo de los azúcares.

3.1. Enzimas hidrolíticas

La lactasa se expresa en el intestino de los mamíferos, especialmente durante el periodo de lactación. Tanto la glucosa como la fructosa, sacarosa, galactosa y glicerol aumentan la actividad de lactasa y su mRNA en homogenados de mucosa de yeyuno. Además, dietas con elevado contenido en almidón aumentan los niveles de mRNA y la cantidad de lactasa, mientras que dietas con contenido alto en triglicéridos de cadena larga disminuyen la expresión del gen.

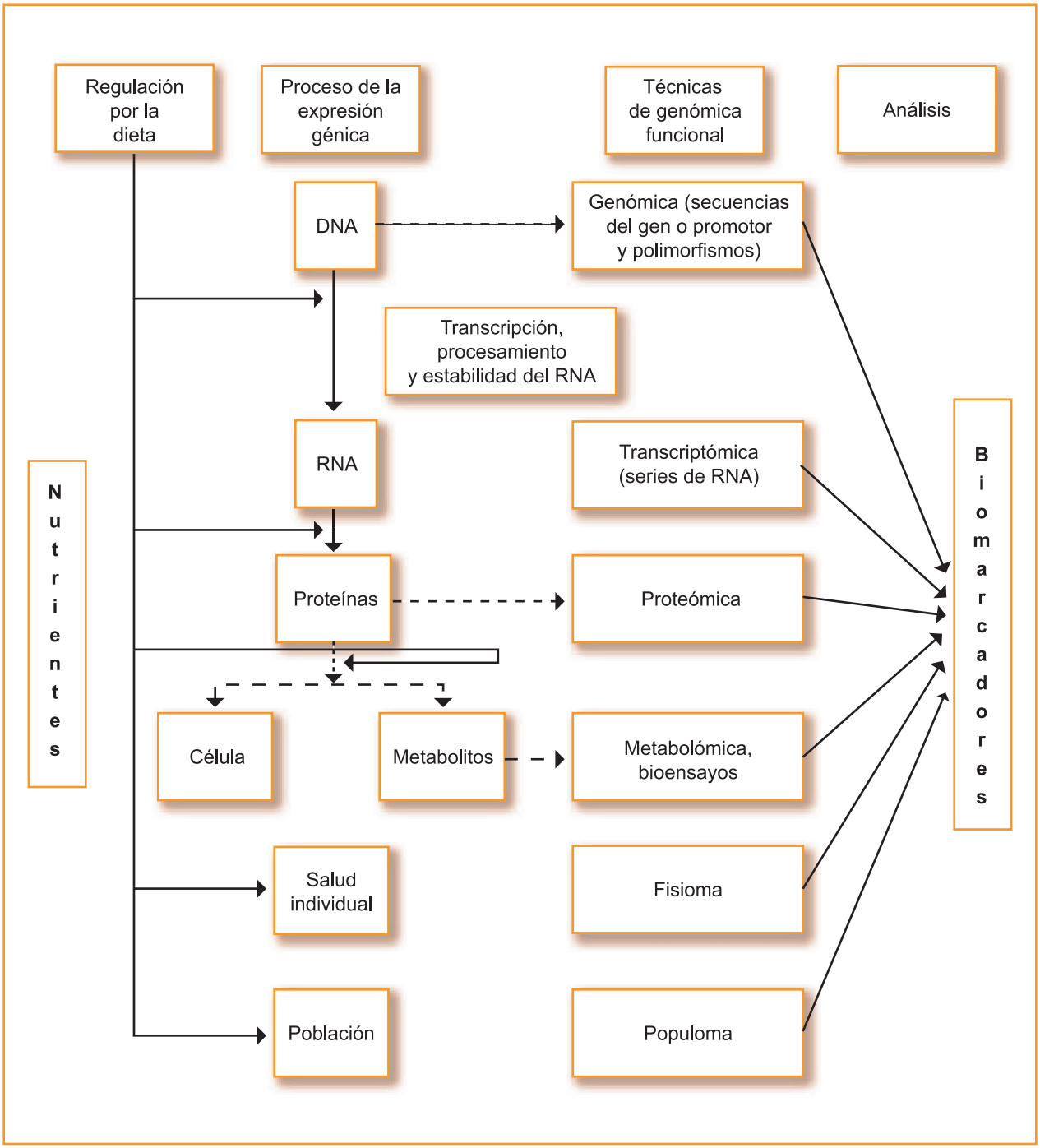


Figura 2. *Nutrigenómica y descubrimiento de biomarcadores. Fuente: modificado de* J Nutr *2003; 133 (Suppl): 3830-3830-6.*

El complejo sacarasa-isomaltasa (SI) del borde en cepillo de los enterocitos es esencial para la digestión de la sacarosa y la digestión terminal del almidón. Se ha estudiado el efecto solo o combinado de la sacarosa, hidrocortisona y factor de crecimiento epidérmico (EGF) sobre la expresión de SI en ratas normales y adrenalectomizadas, y se ha encontrado que cada uno de los factores de forma independiente es capaz de aumentar los niveles de mRNA de la SI, aunque la suma de

varios factores conduce a un aumento mayor en la expresión del gen.

3.2. Transportadores de glucosa

La glucosa entra en el epitelio intestinal por transporte activo vía transportador de glucosa acoplado a sodio (SGLT1). En ratones, un aumento de los hidratos de carbono en la dieta aumenta la expresión de SGLT1 tanto en células de las criptas como en las de las vellosidades, pero al cesar la ingesta de hidratos de carbono la reducción en la expresión del transportador se observa únicamente en las criptas, lo que implica que el cambio en la expresión génica se efectúa en las líneas celulares derivadas directamente de las células madre.

El transporte de glucosa en los tejidos no epiteliales de los mamíferos ocurre por difusión facilitada y está mediado por una familia de transportadores denominados GLUT. Hasta la fecha se han caracterizado 11 transportadores diferentes denominados GLUT-1 a GLUT- 9, GLUT-X y GLUT-13 de acuerdo con su identificación cronológica por clonación molecular (*ver Capítulo 1.9*).

Con independencia de la conocida regulación hormonal de los transportadores GLUT, especialmente por insulina, la glucosa por sí misma regula positivamente la expresión de GLUT-4 en el músculo pero no en los adipocitos. Por otra parte, altas concentraciones de glucosa disminuyen la expresión de la isoforma GLUT-1 en células cultivadas por mecanismos pre y postranscripcionales, siendo la incidencia de regulación de uno u otro tipo dependiente del tipo de tejido. Además, dietas con elevado contenido en fructosa regulan positivamente el mRNA del GLUT-5, aumentando su transporte al interior de los enterocitos; el efecto se debe a la fructosa luminal y no a los niveles circulantes de fructosa o de sus metabolitos.

Se ha propuesto que el transportador GLUT-2 podría ser un receptor para glucosa en hepatocitos de manera que cuando ésta interacciona con GLUT-2, se genera una señal que es transmitida al interior celular a través del largo dominio intracitosólico que posee el transportador. Este mecanismo podría actuar simultáneamente con la señal generada por los metabolitos de la glucosa para influenciar la expresión de algunos genes metabólicos como el de la L-PK.

3.3. Insulina

La concentración de glucosa en sangre regula con gran precisión la secreción de insulina en los islotes pancreáticos. En la respuesta rápida a la glucosa no existen alteraciones en la expresión génica, ya que la liberación de la insulina de los gránulos de almacenamiento ocurre por un influjo de calcio mediado por pequeños incrementos de ATP debidos al metabolismo de la glucosa y de otros nutrientes. Sin embargo, la glucosa ejerce un efecto a largo plazo sobre la transcripción y la traducción del gen de la insulina.

El ayuno disminuye los niveles de mRNA de insulina que vuelven a la normalidad con la realimentación. Por otra parte, la tasa de traducción del mRNA para generar proinsulina aumenta por medio de la glucosa mediante tres mecanismos:

a) Aumento de la tasa de transferencia de la proinsulina por aumento de los ribosomas unidos al retículo endoplásmico.

b) Disminución del periodo de paso del mRNA a lo largo del ribosoma.

c) Estimulación directa de la elongación.

En periodos cortos de tiempo, la producción de insulina se controla principalmente a nivel de la traducción de mRNA preexistente. A largo plazo, los niveles de mRNA de insulina se regulan a través de efectos sobre la tasa de transcripción del gen y por cambios que afectan a la estabilidad del mRNA. Por otra parte, la glucosa ejerce un efecto directo a nivel pretraduccional sobre la expresión del gen del péptido insulinotrópico.

Los efectos del metabolismo de la glucosa sobre el recambio de las moléculas de mRNA de insulina aún no han sido caracterizados con detalle. A nivel transcripcional se han identificado varios elementos *cis* en el DNA y varios factores de transcripción que actúan como elementos *trans* implicados en la respuesta transitoria del gen de la insulina a cambios en los niveles intracelulares de cAMP o a señales generadas como resultado del metabolismo de la glucosa. Además de las cajas TATA y GC presentes en numerosos promotores, en el promotor de la insulina se han identificado dos cajas del tipo E denominadas IEB1 (o NIR) e IEB2 (o FAR), que tienen la secuencia consenso CANNTG y que aparecen en la regulación de genes específicos de tejido tales como músculo, páncreas y tejido linfoide. Estas cajas se unen a una familia de factores *trans* del tipo HLH

(***H**elix-**L**oop-**H**elix*) que poseen un dominio responsable de la dimerización y otro dominio adyacente responsable de la unión al DNA. Las secuencias IEB se unen específicamente a un factor denominado IEF-1 (***I**nsulin **E**nhancer **F**actor 1*) (factor potenciador de la insulina). Este factor es un heterodímero formado por el producto de un gen simple (*E2A*) y del factor IESF-1 (factor específico potenciador de la insulina 1), que es una proteína del tipo HLH. El factor IESF-1 se expresa únicamente en las células β del páncreas, siendo determinante de la expresión de insulina.

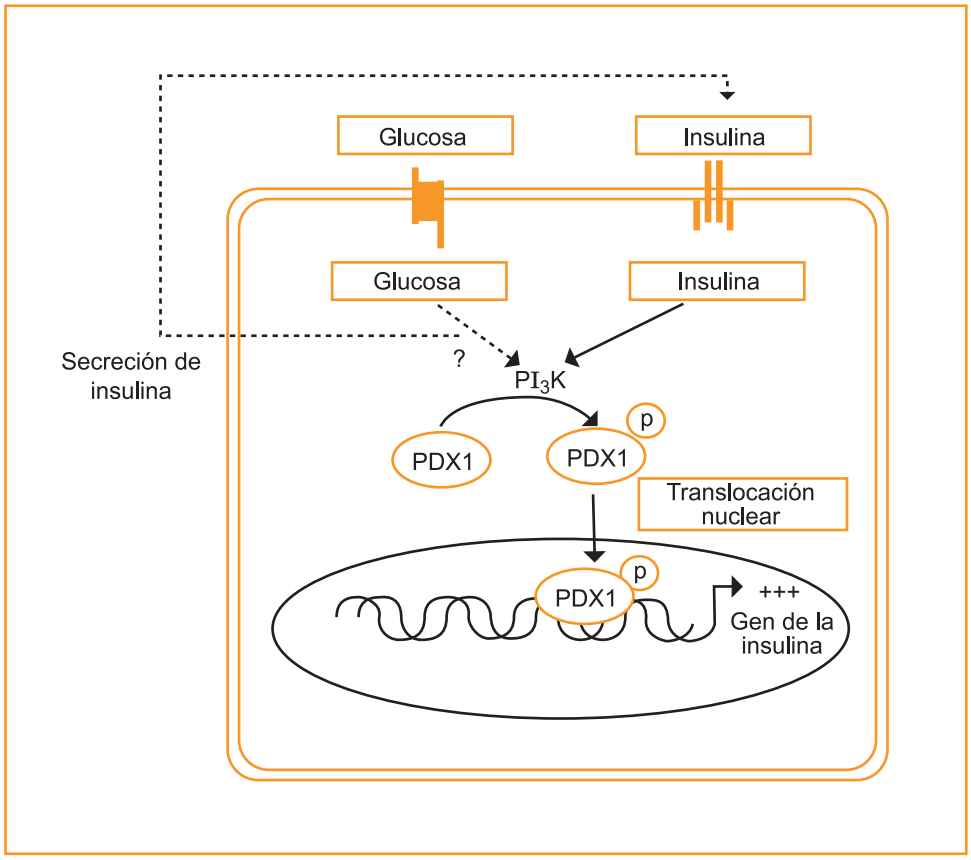


Figura 3. *Modulación de la expresión de insulina por glucosa.*

Además de las secuencias IEB, otras cajas como la E(FAR) y la TATA (FLAT) actúan de forma sinérgica. Por otra parte, se han identificado otras secuencias reguladoras como la caja GAGA y un elemento de respuesta al cAMP (CRE). El elemento de respuesta a la glucosa (GIRE) ha sido mapeado y está incluido en la región FLAT entre -193 y -227; a este sitio se une un factor C1, que comparte detalles estructurales con el factor IUF-1, el cual sólo se expresa en las células β del páncreas.

En la actualidad, se conoce que la glucosa participa en el control de la expresión del gen de la insulina a través del factor de transcripción PDX 1 (***P**ancreatic **D**uodenum Homebo**x** Protein **1***) **(Figura 3)**. Incrementos en la concentración de glucosa en los islotes pancreáticos conducen a la fosforilación de PDX 1 y su posterior translocación hasta el núcleo donde se une al promotor del gen de la insulina dando lugar a una activación en la transcripción. La fosforilación del factor de transcripción es llevada a cabo por fosfatidilinositol-3-kinasa (PI_3K), una proteína que también se activa por otros compuestos, como son fructosa, piruvato o xilitol, así como por la propia insulina (*ver Capítulo 1.5*).

3.4. Genes metabólicos

Diversos experimentos llevados a cabo en hepatocitos, adipocitos y células pancreáticas β han establecido que la glucosa, en ausencia de insulina, estimula la transcripción de varios genes que codifican enzimas implicadas en la glicólisis (L-piruvato kinasa, L-PK) y en la lipogénesis (acetil-CoA carboxilasa, ACC, y ácido graso sintasa, FAS).

Para explicar la respuesta de los tejidos a la glucosa se han considerado varias hipótesis:

a) La presencia de glucosa podría modificar la cantidad de factores de transcripción, incluyendo modificaciones en su localización celular.

b) Los factores de transcripción sufrirían modificaciones postraduccionales en presencia de glucosa,

modificando las interacciones con la maquinaria básica de transcripción o con los coactivadores. Estos cambios implicarían modificaciones alostéricas de la proteína de unión al metabolito de la glucosa que actuaría como señal, reacciones de fosforilación-defosforilación de proteínas nucleares, o ambas. En los últimos años se han acumulado numerosas evidencias a favor de esta segunda hipótesis.

3.4.1. Metabolitos señal

Después de su entrada al hígado, células β pancreáticas y adipocitos, así como otros tejidos periféricos, la glucosa debe metabolizarse para generar una señal intracelular que permita la regulación transcripcional de genes metabólicos. Todavía no está claro cuál es el metabolito implicado en la generación de dicha señal.

Algunos investigadores sugieren que es el xilitol-5-fosfato, un intermediario de la ruta de las pentosas fosfato, apoyándose en las siguientes evidencias experimentales:

a) El xilitol, un precursor de la xilulosa-5-fosfato, estimula la expresión de un gen registrador bajo el control del promotor de L-PK en una línea celular de hepatocitos (AT3F) a bajas concentraciones, sin cambios detectables en glucosa-6-fosfato, el otro candidato importante a ejercer como metabolito señal.

b) En cultivos de células hepáticas, el xilitol (5-10 mM) origina un incremento de hasta seis veces en la cantidad de mRNA de L-PK.

c) La xilulosa-5-fosfato activa una fosfatasa que está implicada en la desfosforilación de factores de transcripción.

Por otra parte, hay quienes defienden el papel de la glucosa-6-fosfato como metabolito señal en base a lo siguiente:

a) En tejido adiposo y células β pancreáticas, el efecto de la glucosa es mimetizado por 2-desoxiglucosa, un análogo de la glucosa que no puede ser metabolizado más allá de su fosforilación para dar 2-desoxiglucosa-6-fosfato, que se acumula en las células.

b) Modificaciones en la concentración intracelular de glucosa-6-fosfato originan a su vez cambios en la expresión de los genes.

c) Cuando se emplean inhibidores de la actividad translocadora de la glucosa-6-fosfatasa, se produce un gran aumento en la concentración de glucosa-6-fosfato, glicógeno y triglicéridos en hígado, así como una activación en la expresión de FAS y ACC.

En cualquier caso, parece necesario un mayor conocimiento de la maquinaria de transducción para poder asignar con exactitud un papel a los distintos metabolitos de la glucosa.

3.4.2. Secuencias cis y factores trans *involucrados en la respuesta a la glucosa*

Se han caracterizado dos elementos de respuesta a la glucosa en los promotores de los genes *L-PK* y *S14*, denominados GIRE (***GI****ucose* ***R****esponse* ***E****lement*) y ChoRE (***C****arbohydrate* ***R****esponse* ***E****lement*), respectivamente. El complejo proteico que se une a GIRE y ChoRE necesita la cooperación de otros sitios del promotor denominados L3 y L4 para obtener la respuesta completa a la glucosa.

Ambos elementos de respuesta a la glucosa tienen dos cajas E del tipo CANNTG separadas por 5 pares de bases y comparten una secuencia palindrómica común ($CATGT(n)_5GGGGTG$), también observada en el promotor del gen FAS.

En el promotor PI del gen de la ACC, presente en el tejido hepático, se ha identificado un ChoRE similar al de los genes L-PK, S14 y FAS.

Las cajas E de los elementos de respuesta a la glucosa son sitios de unión para factores de transcripción del tipo básico hélice-giro-hélice (bHLH: ***b****asic* ***H****elix-****L****oop-****H****elix*). Dentro de este tipo, está el factor denominado USF (***U****pstream* ***S****timulatory* ***F****actor*), responsable de la unión a GIRE y ChoRE. Se han identificado dos USF, denominados USF1 y USF2, con idénticas propiedades de unión al DNA aunque difieren en su dominio N-terminal. Los USF forman dímeros y tienen una distribución ubicua que no se altera por el estado nutricional u hormonal.

Recientemente se ha caracterizado otro factor de transcripción capaz de unirse al ChoRE del gen de la L-PK. Este factor, denominado proteína de unión a ChRE (ChREBP: ***ChRE*** ***B****inding* ***P****rotein*), transloca desde el citoplasma al núcleo en respuesta a la glucosa. No obstante, los mecanismos que establecen la conexión entre los intermedia-

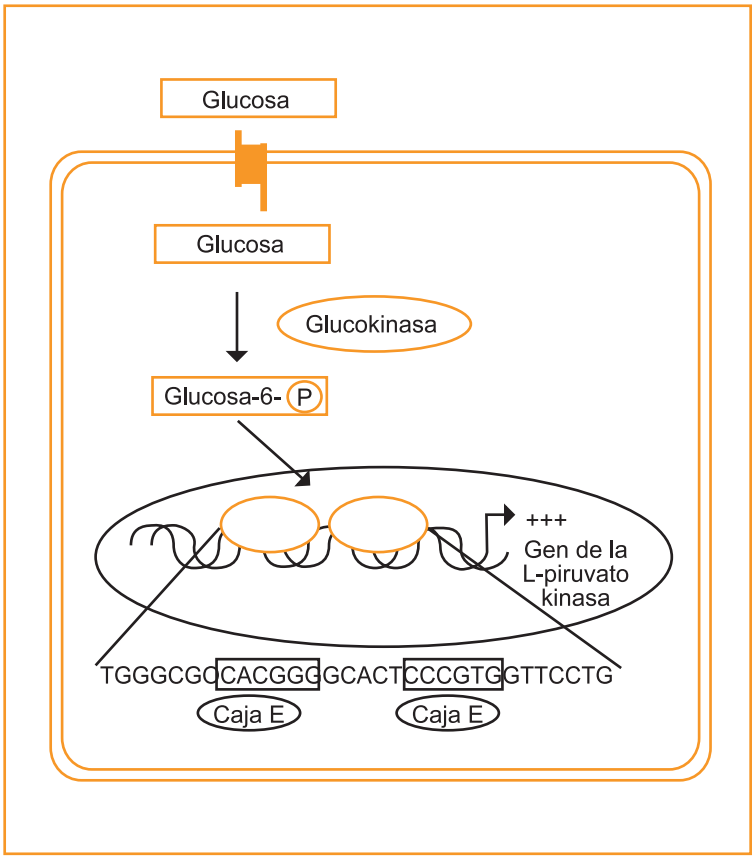


Figura 4. *Modulación de la expresión génica de piruvato kinasa por glucosa.*

rios metabólicos de la glucosa (xilitol-5-fosfato o glucosa-6-fosfato) y el complejo de transcripción son prácticamente desconocidos.

3.4.3. L-piruvato kinasa

La PK cataliza el último paso de la glicólisis: la conversión de fosfoenolpiruvato en piruvato. En mamíferos, existen distintas isoformas que permiten un control específico en los diversos tejidos. La forma predominante en hígado es la L-PK.

El estudio de la región promotora del gen puso de manifiesto la existencia de dos copias de un posible lugar de unión para factores de transcripción. Como se ha comentado anteriormente, aparecen como secuencias palindrómicas separadas por cinco nucleótidos y reciben el nombre de caja E. A estas cajas E se unen los factores de transcripción USF1 y USF2. Para poder interaccionar con el DNA, es necesario que estas proteínas formen dímeros. Aun así, si la distancia entre las cajas E es menor de cinco nucleótidos, la respuesta a glucosa se pierde totalmente, y si la distancia es mayor, entonces disminuye considerablemente. Por tanto, la separación y orientación de las secuencias son críticas para el control **(Figura 4)**.

Estudios complementarios han demostrado que COUP- TFII (***C**hicken **O**valbumin **U**pstream **P**romoter **T**ranscription **F**actor **II***) se une a una región que solapa con aquélla a la que se une USF, de manera que la unión de uno de los factores interfiere con el otro. Se cree que a bajas concentraciones de glucosa es COUP-TFII el que se une al DNA impidiendo la interacción de USF que daría lugar al incremento en la expresión del gen.

3.4.4. Acetil-CoA carboxilasa

Esta enzima cataliza la carboxilación de acetil-CoA para dar malonil-CoA, y tiene un papel fundamental en la regulación de la síntesis de ácidos grasos, por lo que está sometida a numerosos mecanismos de control, incluyendo el transcripcional.

El gen de esta enzima presenta dos promotores. El promotor PII contiene una región que incluye dos cajas GC (-340 a -182) que constituyen la secuencia consenso para la unión del factor de transcripción general Sp1. Mutaciones puntuales en las cajas GC dan lugar a la desaparición de la respuesta frente a glucosa.

La inducción de dicha respuesta a través de la actuación de Sp1 no se debe a un incremento en la cantidad del factor de transcripción, sino a la desfosforilación de la proteína.

3.4.5. Glucosa-6-fosfatasa

La glucosa-6-fosfatasa es la última enzima de la ruta gluconeogénica en la que se produce la transformación de glucosa-6-fosfato en glucosa. Esta enzima desempeña un papel fundamental en

la homeostasis de la glucosa, estando presente en intestino delgado, hígado y riñón. Durante el destete, una dieta con elevado contenido en hidratos de carbono hace aumentar notablemente la expresión del gen correspondiente en hígado, pero no en yeyuno.

Como ya se ha comentado, la expresión de la glucosa-6-fosfatasa disminuye su expresión en presencia de insulina y aumenta en presencia de glucosa. Para todos los genes sensibles a glucosa e insulina, el efecto es común frente a los dos estímulos, ya sea positivo o negativo, pero éste no es el caso de la glucosa-6-fosfatasa. La relevancia fisiológica de este fenómeno no se conoce todavía. Es posible que la enzima tenga una función desconocida en relación con la disponibilidad de glucosa por el organismo.

4. Regulación de la expresión génica por lípidos

Los lípidos de la dieta son macronutrientes indispensables para el crecimiento y desarrollo de los mamíferos. Además de su función energética y de su papel en la composición de las membranas, la grasa dietética ejerce efectos profundos sobre la expresión génica que dan lugar a cambios en el metabolismo, crecimiento y diferenciación celular.

Los efectos de la grasa dietética sobre la expresión génica reflejan una respuesta adaptativa a cambios en la cantidad y tipo de grasa ingerida. Se han identificado factores de transcripción específicos en los mamíferos, entre los que se incluyen receptores activados por proliferadores de los peroxisomas (PPAR-α, β, δ y γ), factor nuclear 4 de los hepatocitos (HNF4), factor nuclear κB (NF-κB) y proteína de fijación a elementos de respuesta a esteroides tipo c (SREBP1c), así como receptores hepáticos X (LXR). Estos factores se regulan por:

a) Fijación directa de ácidos grasos, acil-CoA, ácidos grasos oxidados (eicosanoides) u oxiesteroles.

b) Regulación por eicosanoides de receptores ligados a proteínas G y activación de cascadas de señales que alcanzan el núcleo.

c) Regulación por eicosanoides de los niveles intracelulares de Ca que afectan a las cascadas de señales que llegan al núcleo.

La **Tabla 4** muestra los ligandos y funciones de los factores de transcripción principales activados por los lípidos. Asimismo, la **Figura 5** muestra la interacción de los ácidos grasos con los receptores nucleares y las vías metabólicas implicadas.

A nivel celular la respuesta fisiológica a los ácidos grasos depende de la cantidad, estructura química y cantidad de la grasa ingerida, del metabolismo de ácidos grasos específico de tipos celulares concretos (vías oxidativas, cinética y reacciones competitivas), de la abundancia celular de los receptores de membrana y nucleares y de la presencia de factores específicos de transcripción.

Los mecanismos de regulación de la expresión génica mediada por ácidos grasos están implicados en el control del metabolismo de los hidratos de carbono y de los lípidos, en el crecimiento y diferenciación celular, y en la producción de citokinas, moléculas de adhesión y producción de eicosanoides. Los efectos de los ácidos grasos de la dieta sobre el genoma humano proveen nuevas vías de abordaje para determinar cómo los lípidos dietéticos influencian la salud y la enfermedad. La **Figura 6** muestra un esquema de cómo los ácidos grasos pueden modular la expresión de genes.

En bacterias y levaduras se conocen varios sistemas génicos cuya expresión se regula por ácidos grasos para adaptarse al medio externo. Sin embargo, en los mamíferos el control de la expresión génica mediada por ácidos grasos presenta varias interfases con vías de regulación endocrinas, paracrinas y autocrinas.

Dietas con contenido elevado en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) tanto de la serie n-6 como n-3 suprimen rápidamente la transcripción de algunos genes hepáticos como la FAS, proteína S14, estearoil CoA desaturasa 1 (SCD1) y L-PK. Por otra parte, dietas con contenido elevado de AGPI n-3 inducen la expresión de genes implicados en la oxidación de ácidos grasos tales como acil-CoA oxidasa (AOX) y el citocromo *CYP4A2*. Sin embargo, la supresión de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa por AGPI conlleva un mecanismo de regulación postranscripcional. Todos estos efectos son debidos a la acción directa de los ácidos grasos sobre las células del parénquima hepático y no a la acción indirecta de metabolitos u hormonas, en los que están implicados mecanismos de regulación de la transcripción mediada por eicosanoides y PPAR.

Tabla 4. LIGANDOS Y FUNCIONES DE LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN PRINCIPALES ACTIVADOS POR LÍPIDOS

Receptor nuclear	Ligando	Modo de activación	Genes implicados y funciones
PPAR-α	• AGPI n-3 • AGPI n-6 • Eicosanoides (LTB_4)	• Interacción directa con lípidos • Heterodimerización con RXR	• Apo A-I, apo A-II, apo C-III (transporte de lipoproteínas) • FABP (transporte intracelular de ácidos grasos) • CPTI (entrada de los ácidos grasos a la mitocondria) • Acil-CoA oxidasa (β-oxidación peroxisomal) • Acil-CoA deshidrogenasa β-oxidación mitocondrial)
PPAR-γ	• AGPI n-3 • AGPI n-6 • Eicosanoides	• Interacción directa con lípidos • Heterodimerización con RXR	• FABP, FATP, CD36 (transporte de ácidos grasos) • LPL (hidrólisis de lipoproteínas) • Acil-CoA sintasa (lipogénesis) • UCP (termogénesis) • TNF-α (citokina proinflamatoria) • Leptina (regulador de la saciedad)
PPAR-δ	• AGPI n-3 • AGPI n-6 • Eicosanoides	• Interacción directa con lípidos • Heterodimerización con RXR	• FABP (transporte de ácidos grasos) • Ciclooxigenasa (síntesis de prostaglandinas y otros eicosanoides)
HNF-4-α	• Agonistas: AGCC (14-16) • Antagonistas: esteárico, AGPI n-3 y n-6	• Interacción directa con lípidos activados (Acil-CoA) • Homodimerización	• Apo A-I, apo B, apo C-III (transporte de lipoproteínas) • FABP (transporte de ácidos grasos) • Acil-CoA deshidrogenasa (oxidación mitocondrial de ácidos grasos) • HNF-1-α/PXR (factores de transcripción) • CYP3A4-6 (citocromos P-450 de hidroxilación peroxisómica)
LXR	• Agonistas oxiesteroles • Antagonistas AGPI n-3 y n-6	• Interacción directa con oxiesteroles • Competición con AGPI y heterodimerización con RXR	• CYP7A (metabolismo de ácidos biliares) • CETP (intercambio de colesterol) • SREBP1c, el cual afecta a las enzimas lipogénicas FAS, estearoil CoA desaturasa, ACC, EM y G6PDH

ACC: acetil CoA carboxilasa; AGCC: ácidos grasos de cadena corta; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; CETP: proteína de transferencia de colesterol; CPT- I: carnitina palmitoil transferasa I; EM: enzima málica; FABP: proteína de unión a ácidos grasos; FAS: ácido graso sintasa; FATP: proteína transportadora de ácidos grasos; G6PDH: glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; RXR: receptores del ácido retinoico; TNF-α: factor de necrosis tumoral α; UCP: proteína desacoplante de la fosforilación oxidativa.

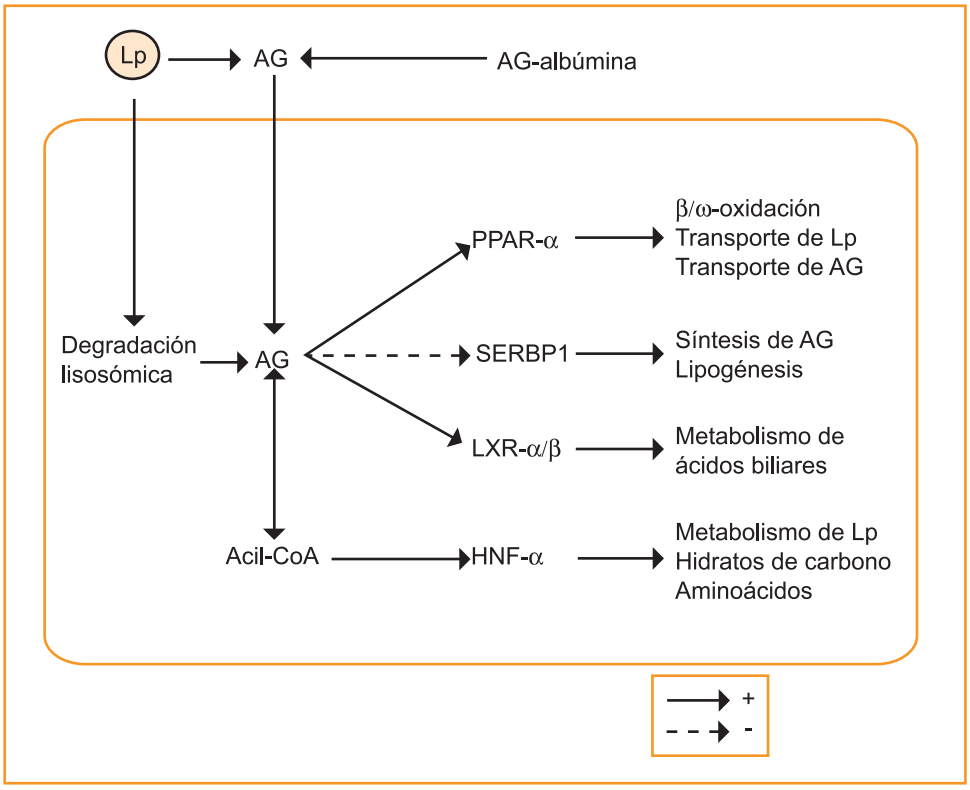


Figura 5. *Interacciones de los ácidos grasos con diferentes factores de transcripción. AG: ácido graso; HNF-α: factor nuclear de los hepatocitos α; Lp: lipoproteínas; LXR: receptor huérfano del hígado; PPAR: receptor activado por proliferadores de los peroxisomas; SERBP: proteína de unión al elemento de respuesta a esteroides.*

Los ácidos grasos, sintetizados endógenamente o procedentes de la dieta, pueden actuar, directa o indirectamente, como reguladores de la homeostasis lipídica mediante su interacción con receptores de membrana nucleares, como los PPAR.

Los PPAR tienen una estructura similar a otros factores de transcripción de la superfamilia de receptores de esteroides y hormonas tiroideas, y son activados por conocidos agentes de proliferación de los peroxisomas como clofibratos, nafenopina, tiazolidindionas y algunos esteroides como la deshiroepiandrosterona. Los PPAR requieren un factor RXR (receptor de ácido retinoico) como socio heterodimérico para unirse al DNA **(Figura 7)**.

Los elementos *cis* de respuesta a PPAR son motivos de repetición directa (DR-1) con extensiones 5' con una secuencia consenso 5'-AACTAGGNCAAAGGTCA-3'. Los PPAR interaccionan con el activador 1 de los receptores de esteroides (SRC-1), con la proteína fijadora de PPAR (PBP) y con otros factores que desempeñan un papel de coactivadores de la transcripción. Los eicosanoides también se fijan al PPAR-γ.

La **Tabla 4** muestra lo principales ligandos y modo de acción de los distintos tipos de PPAR, así como los principales genes cuya expresión se afecta por la activación de estos receptores.

El PPAR-α ejerce su efecto principal en el hígado y en el músculo, mientras que el PPAR-γ influencia la expresión de los genes en tejido adiposo y células tumorales. Las células endoteliales y macrófagos de la pared arterial responden a ambos PPAR. Los PPAR-α producen un aumento en la expresión de la lipoproteína lipasa en el músculo y una disminución de la apo CIII en hígado. Todo esto origina cambios en el perfil lipídico plasmático, produciéndose una disminución de los triglicéridos sanguíneos y aumentando la concentración de HDL que se traduce en un efecto antiaterosclerótico. En el tejido adiposo, los PPAR-γ estimulan la expresión de genes implicados en la lipogénesis, adipogénesis y termogénesis.

En las células tumorales, los PPAR-α y γ tienen efectos antiproliferativos, mientras que PPAR-δ o β promueven los procesos neoplásicos. Los ácidos grasos influencian el desarrollo de diferentes cánceres, teniendo efectos positivos o negativos según los tejidos y la variabilidad genética de los pacientes:

- Mama: los AGPI n-3 tienen un efecto protector.
- Colon: los PPAR-γ tienen un efecto supresor.
- Próstata: la activación de PPAR-γ por 15-HETE produce la inhibición del crecimiento del tumor.

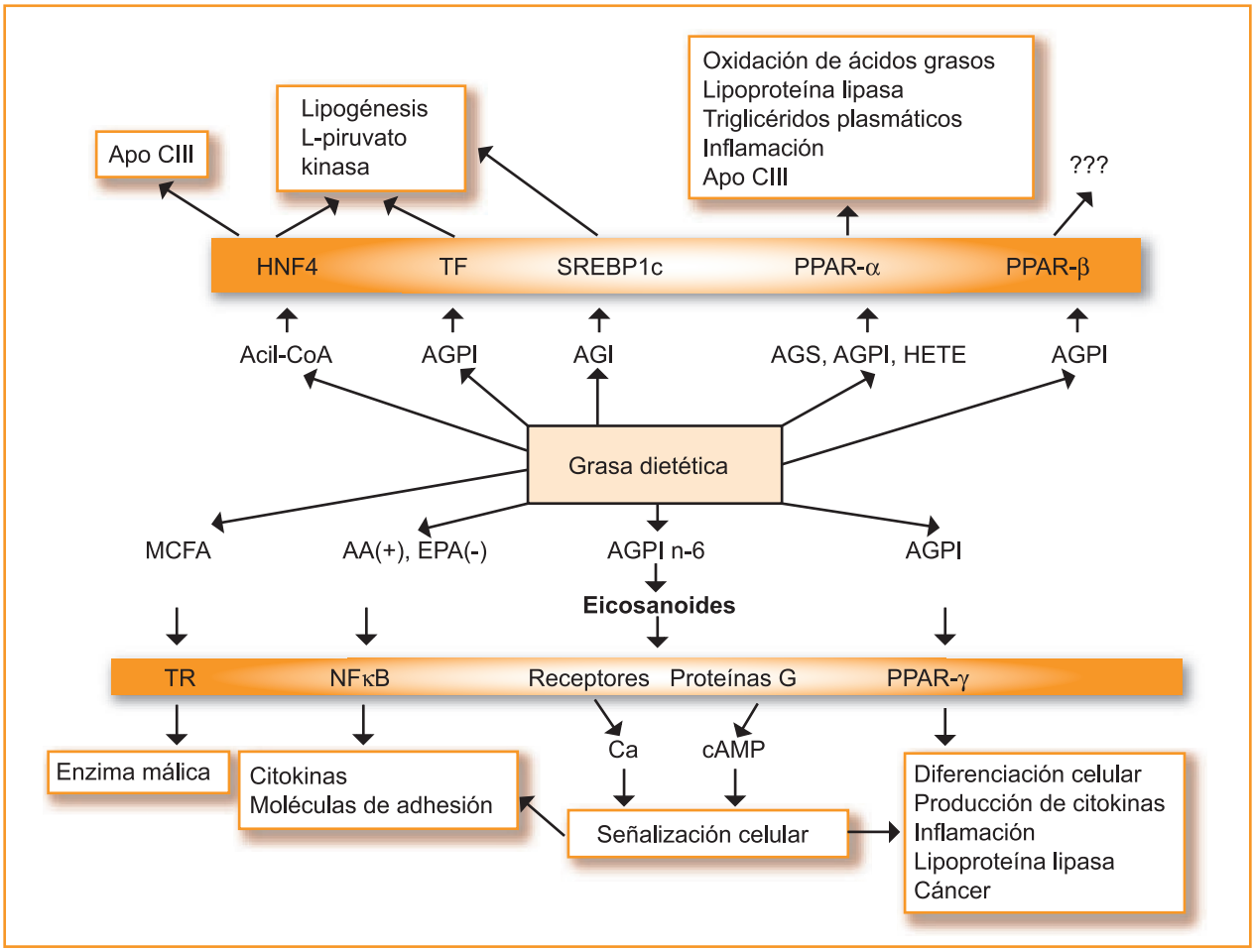


Figura 6. *Regulación de la expresión génica por la grasa dietética. AA: ácido araquidónico; AGI: ácidos grasos insaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; AGS: ácidos grasos saturados; HETE: hidróxidos de eicosanoides trienoicos; HNF4: factor nuclear de hepatocitos 4; MCFA: ácidos grasos de cadena media; PPAR: receptor activado por proliferadores de los peroxisomas; SREBP1c: proteína de unión al elemento regulador de esteroles; TF: factor tiroideo.*

Los PPAR-γ 1 y 2 parecen ser que controlan la expresión de la acil-CoA sintasa y de proteínas relacionadas con la unión y el transporte de los ácidos grasos. Además de su unión con el RXR, para estimular la expresión de los genes que codifican las proteínas para la oxidación de los ácidos grasos, también pueden controlar la expresión de los genes implicados en la maduración proteolítica de factores de trascripción como SREBP (***S**terol **R**egulatory **E**lement **B**inding **P**rotein*) o proteínas de unión al elemento regulador de los esteroles, suprimiendo la expresión de enzimas lipogénicas hepáticas. Puesto que los PPAR sólo reconocen a los ácidos grasos libres, las enzimas acil-CoA tioesterasas, que transforman acil-CoA en ácido graso libre y CoA, son muy importantes en la regulación de su actividad.

Los PPAR son los mediadores del aumento de la expresión génica de la desaturación y elongación de ácidos grasos, así como de la β-oxidación peroxisómica mediada por AGPI de las series n-6 y n-3. El PPAR-α se requiere también para la regulación de ciertas apoproteínas, translocasas de ácidos grasos, proteínas de transporte de ácidos grasos y para la inducción de enzimas mitocondriales: palmitoil-carnitina transferasa I, acil-CoA deshidrogenasas de ácidos grasos de cadena muy larga, de cadena media y de cadena corta, cetoaciltiolasa, acil-CoA sintetasa de ácidos grasos de cadena larga y enzima málica.

La fijación de ácidos grasos a PPAR difiere del tipo celular. El ácido eicosapentaenoico (20:5n-3)

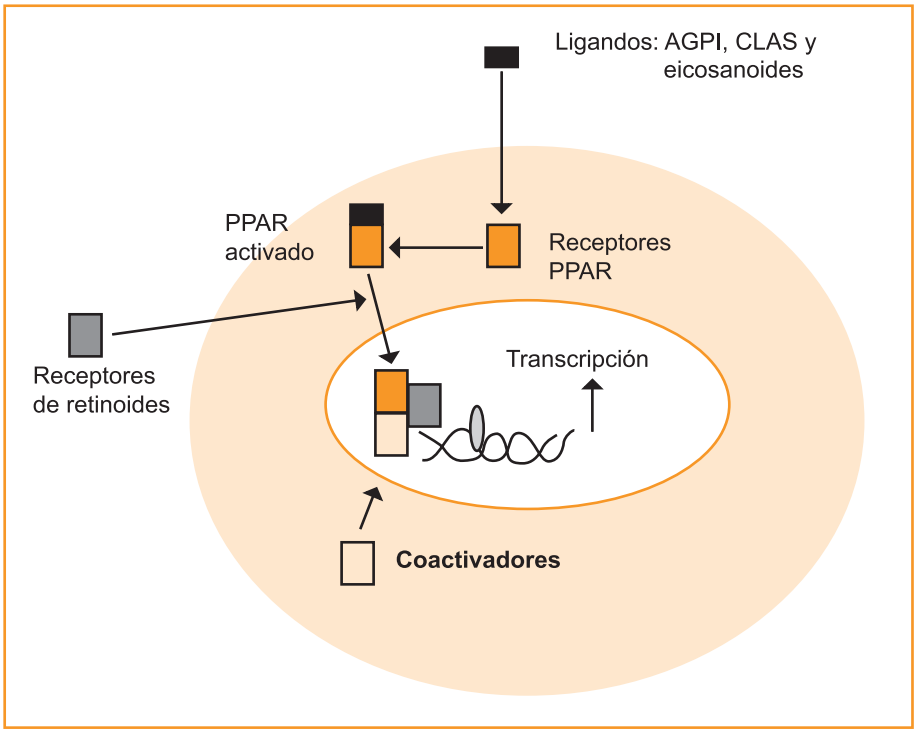


Figura 7. *Ligandos y activación de los PPAR. AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; CLAS: ácido linoleico conjugado; PPAR: receptor activado por proliferadores de los peroxisomas.*

se une al PPAR-α de hepatocitos primarios, pero no así el ácido araquidónico (20:4n-6). Los ácidos grasos y algunos prostanoides inducen la diferenciación de adipocitos, un proceso mediado por el aumento en los mRNA que codifican enzimas lipogénicas a través de PPAR-γ 2.

Aunque los PPAR inducen muchos genes, también reprimen la expresión de otros como los de la apoproteína CIII (apo CIII), transferrina, S14 y L-PK. Por otra parte, evidencias recientes han demostrado que, además de los PPAR, otros receptores nucleares como HNF4, los receptores de tiroxina (TR) y los receptores de estrógenos interaccionan con los ácidos grasos o con sus metabolitos y regulan la expresión de numerosos genes. Los heterodímeros de PPAR con RXR compiten con el factor HNF4 por unirse a elementos DR-1 en los promotores de la apo CIII y de la transferrina. Al contrario de lo que ocurre con los ácidos grasos libres, el palmitoil-CoA se une al HNF4-α, mientras que no se une a PPAR y XRX. El palmitoil CoA estimula, y el estearoil CoA inhibe, la unión del HNF4-α al elemento DR-1 del gen de la apo CIII, lo que coincide con los conocidos efectos dietéticos del palmítico y esteárico sobre los perfiles de las apoproteínas plasmáticas. El HNF4-α también se une al promotor de la L-PK, y el efecto está mediado por acil-CoA.

La unión de T_3 a su receptor (TR) se inhibe *in vitro* de forma competitiva por la presencia de acil-CoA tanto saturados como insaturados, aunque la significación biológica de este hecho aún no está clara. Además, se ha demostrado que los ácidos grasos de cadena media interfieren con la transactivación mediada por T_3 y por estrógenos.

Algunos efectos de los eicosanoides son agudos y representan cambios rápidos de actividad de proteínas preexistentes, pero otros son debidos a cambios en la expresión génica. La PGE_2 procedente del araquidonato estimula la síntesis de DNA y la mitosis por activación de la expresión de los genes *c-fos* y *Egr-1* a través de una vía mediada por proteína kinasa C, y el propio araquidonato suprime la expresión de FAS y S14, en adipocitos 3T3. Otros estudios sugieren que el araquidonato y sus eicosanoides derivados regulan la expresión de genes independientemente de las proteínas G. Asimismo, como anteriormente se ha comentado, muchos genes implicados en la respuesta inflamatoria como el de la ciclooxigenasa *COX-2*, citokinas y moléculas de adhesión requieren la unión a NF-κB y su posterior fijación a elementos de respuesta en sus promotores.

Todos estos estudios indican que los ácidos grasos de la dieta pueden afectar la producción de citokinas proinflamatorias y de moléculas de adhesión en las células endoteliales y musculares de los vasos a través de dos vías, PPAR y ciclooxigenasa, que interfieren con las señales mediadas por NF-κB.

Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) también parecen modular la expresión génica.

La inyección por vía parenteral de AGCC a ratas con resección del 80% del intestino conduce a un aumento de mRNA de proglucagón ileal y de GLUT-2. Asimismo, en perros diabéticos la ingesta de fibra, la cual es fermentada en el colon hasta AGCC, aumenta la expresión génica de proglucagón PGL-1. El efecto del butirato sobre la expresión de citokinas intestinales parece estar mediado por su capacidad de acetilación de las histonas y alteración de la estructura de los nucleosomas.

Por otra parte, los oxiesteroles interaccionan con los receptores LXR aumentando la expresión del gen del citocromo CYP7A, dando lugar a un aumento en la síntesis de ácidos biliares. Además, esta acción aumenta la expresión de la proteína de intercambio de colesterol cuyo papel es fundamental en el transporte inverso de colesterol. Por el contrario, la competencia entre AGPI y los oxiesteroles reduce la expresión de SREBP1c y, por tanto, de las enzimas clave que regulan la lipogénesis.

5. Regulación de la expresión génica por aminoácidos y otros compuestos nitrogenados

5.1. Aminoácidos

En las bacterias, la depleción de un solo aminoácido conduce al aumento de la transcripción de genes que codifican para las enzimas de la correspondiente vía biosintética. En las levaduras, además del control específico de genes implicados en la síntesis de aminoácidos, existe un mecanismo de control general del metabolismo nitrogenado (GCN: ***G****eneral* ***C****ontrol Process of* ***N****itrogen*) que implica a más de 30 genes en nueve vías biosintéticas diferentes.

En los mamíferos, un cambio en la concentración de un aminoácido o de uno de sus metabolitos puede modular la actividad enzimática a través de procesos hormonales o nerviosos complejos, más que por control directo de la transcripción o traducción. No obstante, existen evidencias del control directo de varios genes por aminoácidos. Así, la presencia del sistema A de transporte de aminoácidos neutros dependiente de Na, presente en casi todas las células de mamíferos, es proporcional a la concentración extracelular de aminoácidos, y el ayuno aumenta su expresión mientras que la realimentación la disminuye. Por otra parte, parece que el nivel de carga de los t-RNA es un factor determinante en las señales mediadas por aminoácidos para los mecanismos de control específicos ocasionados por la depleción de aminoácidos concretos.

Existen varios genes que codifican para proteínas ribosómicas, que están regulados por la disponibilidad de aminoácidos. Éste es el caso de los genes *L17* y *S25*, que codifican proteínas para la subunidad ribosómica 60S. La Gln, el Asp y el aminoisobutírico son los represores más efectivos de la inducción de L17, al igual que ocurre con la AS, lo que sugiere un mecanismo de sensibilización común para varios genes dependientes de la disponibilidad de aminoácidos.

En estudios recientes, se ha demostrado que la adición de glutamina a fórmulas de uso enteral y parenteral aumenta las concentraciones de glutamina en sangre, mejora el balance nitrogenado y la proliferación celular, y disminuye la incidencia de infecciones y la duración de las estancias hospitalarias.

La suplementación con glutamina reduce la muerte celular provocada por *shock* térmico, induciendo específicamente las proteínas hsp 70 y 72 en las células intestinales, mientras que la privación de glutamina induce apoptosis de los enterocitos. Sin embargo, se desconocen los mecanismos moleculares íntimos de cómo la glutamina puede modular directamente la expresión de estos y otros genes.

Un creciente número de ejemplos indica que muchos genes se regulan en varios pasos que incluyen la transcripción, el procesado postranscripcional, la exportación nuclear y la traducción de los mRNA maduros. La traducción en sí misma es regulada por un conjunto de mecanismos que actúan no sólo en la fase de iniciación sino también en las fases de elongación y de terminación (*ver Capítulo 1.6*).

La disponibilidad de aminoácidos de la dieta desempeña un papel crucial en algunos de los mecanismos reguladores implicados en la fase de iniciación de la traducción, así como en la selec-

ción de los mRNA que van a ser traducidos y la proporción de traducción de los mismos.

Se han descrito varios ejemplos de la inducción de genes tras eliminar la ingesta de aminoácidos en células de mamíferos. Sin embargo, muy pocos de ellos han sido estudiados a nivel molecular. La mayor parte de la información existente sobre la regulación de la expresión génica por aminoácidos ha sido obtenida de estudios de los genes *CHOP* y *AS*.

5.1.1. Gen CHOP

CHOP (***C****/EBP* ***Ho****mologous* ***P****rotein*) es una proteína nuclear relacionada con la familia de los factores de transcripción C/EBP (***C****CAAT/* ***E****nhancer* ***B****inding* ***P****rotein*) que dimeriza con otros miembros de su familia y que está involucrada en la apoptosis celular. La expresión del gen *CHOP* se ve fuertemente afectada por el estrés celular causado por estrés oxidativo y el deterioro del DNA. Asimismo, la expresión también se afecta tanto a nivel transcripcional como postranscripcional por la supresión de los aminoácidos de la dieta.

En el promotor del gen *CHOP* se ha identificado un elemento de respuesta a aminoácidos denominado AARE (***A****mino* ***A****cid* ***R****esponse* ***E****lement*) entre los nucleótidos -313 y -295, el cual es capaz de inducir la expresión en respuesta al ayuno total de aminoácidos. La secuencia de AARE (5'-ATTGCATCA-3') muestra cierta similitud con los sitios *cis* específicos de unión de las familias de factores de transcripción C/EBP y ATF/CREB. Entre estos factores sólo el ATF2 y el ATF4 están involucrados en la regulación dependiente de los aminoácidos por el AARE.

El ATF2 es un factor de transcripción que posee un dominio de cremallera de leucina que le permite heterodimerizar con otras proteínas del tipo cremallera b (*b-Zip*). Su capacidad de activación génica se regula vía fosforilación de dos restos de treonina y uno de serina (residuos Thr-69, Thr-71, y Ser-90). En respuesta a una supresión de aminoácidos, y en particular de leucina, se induce la fosforilación del ATF2 en células humanas.

Los resultados de varias investigaciones sugieren que la fosforilación del ATF2 es necesaria para que el gen *CHOP* se exprese. Sin embargo, el factor de transformación de los fibroblastos TGF-β conocido por inducir la fosforilación de ATF2, es incapaz de inducir la regulación dependiente del AARE en respuesta a una eliminación de aminoácidos, mostrando, así, que la fosforilación de ATF2 es necesaria pero no suficiente. La kinasa responsable de la fosforilación del ATF2 en condiciones de ayuno no ha sido todavía identificada.

En la vía GCN de hongos, la kinasa denominada GCN2 se activa en respuesta al ayuno de aminoácidos. De hecho, la acumulación de tRNA libres durante la privación de aminoácidos es capaz de activar a la GCN2. La kinasa homóloga en mamíferos también ha sido caracterizada hace pocos años y sus características son similares a la de los hongos, induciéndose bajo condiciones de suministro limitante de aminoácidos.

Recientemente, se han obtenido ratones homocigóticos para el gen *Gcn2* alterado, los cuales son viables, fértiles y no presentan anormalidades fenotípicas bajo condiciones estándar de crecimiento. Sin embargo, si los ratones *knock-out* son alimentados con una dieta deficiente en aminoácidos, las mortalidades pre y neonatal aumentan significativamente. Por tanto, los resultados de estos estudios sugieren un importante papel de la kinasa GCN2 *in vivo* sobre la adaptación de los organismos a la privación de aminoácidos.

Recientemente, se ha identificado al ATF4 como el primer regulador de la expresión del gen *CHOP* bajo circunstancias de inhibición del inicio de la traducción. Así, como se detallará más adelante, varias señales de estrés, entre ellas la privación de aminoácidos, inducen las kinasas del factor de iniciación de la traducción en los organismos superiores, eIF-2α, tales como GCN2, PKR, PERK o HRI. En caso de privación de aminoácidos, la fosforilación de eIF-2α por GCN2 inhibe el inicio de la traducción pero, paradójicamente, aumenta la traducción de ATF4 por un mecanismo similar al de GCN4 en hongos. A pesar de que ATF4 es necesaria para la inducción de la expresión del gen *CHOP* en respuesta a la supresión de leucina en la dieta, ésta tampoco es suficiente. Además, se ha demostrado que ATF4, una vez inducido por la privación de leucina u otro tipo de estrés, es capaz de interaccionar *in vitro* con el AARE del gen *CHOP*. No obstante, esta interacción conduce a la activación génica sólo cuando el ATF4 ha sido inducido por la eliminación de aminoácidos en la dieta.

5.1.2. Gen de la asparragina sintetasa (AS)

La gran mayoría de las células de los mamíferos expresa la enzima asparragina sintetasa (AS), responsable de la síntesis de asparragina (Asn) a partir de la glutamina y aspartato.

Como el gen *CHOP*, la transcripción del gen *AS* aumenta en respuesta a una falta de aminoácidos o de glucosa. Se ha identificado la región del promotor de *AS,* situada en -70 a -64, donde hay un elemento cuya secuencia es 5'CATGATC-3', necesario para la regulación dependiente de la ausencia o la presencia de aminoácidos. Asimismo, se ha demostrado que esa secuencia también es responsable de la inducción de *AS* por la ausencia de glucosa. Esta secuencia se ha denominado NSRE-1 (***N****utrient-****S****ensing* ***R****esponse* ***E****lement 1*).

Por otro lado, el análisis del promotor indica que existe una segunda secuencia, 11 nucleótidos "gen abajo" del NSRE-1, que es también requerida para la activación en respuesta a la privación de aminoácidos y de glucosa. Esta segunda secuencia es conocida como NSRE-2, y la unidad genómica resultante de NSRE-1 y NSRE-2 ha sido denominada NSRU (***N****utrient-****S****ensing* ***R****esponse* ***U****nit*).

Los niveles de tRNA-Asn descienden cuando varias líneas celulares se transfieren a un medio exento de asparragina, y la actividad y los niveles de mRNA AS aumentan. La glutamina y otros aminoácidos en menor medida invierten la represión del gen. En la regulación de la expresión del gen *AS* intervienen varios elementos *cis* del propio gen, que afectan a la actividad del mRNA, y otros elementos situados en el promotor.

En condiciones de ayuno, la magnitud del incremento en el mRNA de la AS es mucho mayor que el de proteína, lo que sugiere la existencia de un control postraducción de esta enzima.

El elemento AARE del gen *CHOP* y la unidad NSRU del gen *AS* tienen muchas características comunes, entre las que se encuentra la secuencia central de CHOP AARE y AS NSRE-1, en la que sólo existe una diferencia de dos nucleótidos. Sin embargo, también existen diferencias que impulsan a pensar que la inducción de *CHOP* y *AS* mediada por la privación de aminoácidos no ocurre a través de un mecanismo único y común para ambos. De hecho, la región exacta gen abajo de CHOP AARE no muestra una similitud con el sitio del NSRE-2. Asimismo, la especificidad de los aminoácidos en relación con el grado de inducción de estos dos genes es diferente. Además, mientras que el ATF2 es esencial para la actividad del CHOP AARE bajo privación de aminoácidos, la actividad de AS NSRE-1 no es tan clara. Así pues, CHOP AARE y AS NSRE-1 son estructuralmente parecidos pero funcionalmente diferentes.

5.1.3. Control del inicio de la traducción por la biodisponibilidad de aminoácidos

La fosforilación del factor de iniciación de la traducción en los eucariotas eIF-2 supone un mecanismo fundamental en el control traduccional de la expresión génica **(Figura 8)** (*ver Capítulo 1.6*). La fosforilación de la subunidad α del eIF-2 en la Ser-51 da lugar a la supresión de la síntesis global de proteínas. El proceso de fosforilación está mediado por al menos cuatro proteínas kinasas diferentes, todas ellas activadas por situaciones de estrés celular. Así, la proteína kinasa activada por RNA de doble cadena análoga a la del retículo endoplásmico (PERK: *Double stranded RNA-activated* ***P****rotein kinase-like* ***E****ndoplasmic* ***R****eticulum-associated* ***K****inase*) se activa en respuesta a varias situaciones que conducen a un funcionamiento defectuoso del plegamiento proteico en el retículo endoplásmico; por ejemplo, la PERK se activa por RNA de doble cadena durante las infecciones virales. La kinasa-2 de control general no desrepresora (GCN2: ***G****eneral* ***C****ontrol* ***N****on-derepressing kinase-2*), una enzima que se ha conservado desde las levaduras hasta el hombre y que fosforila al eIF-2, se activa en respuesta al ayuno proteico, la limitación celular de purinas o el daño al DNA. Actuando solas o en combinación, las eIF-2α kinasas dan lugar a la hiperfosforilación de dicho factor en respuesta a una serie de situaciones tales como niveles subóptimos de glucosa, aminoácidos o suero sanguíneo, presencia de metales pesados, formación de radicales libres de oxígeno, hipoxia o condiciones hiperosmóticas.

La hiperfosforilación del eIF-2α conduce a la supresión de la síntesis de proteínas a través de un mecanismo por el cual se inhibe la unión del Met-RNA^{i} a la subunidad 40S del ribosoma. Como se describió en el Capítulo 1.6, el Met-RNA^{i} se une a la subunidad 40S en forma de un complejo ternario con el eIF-2 y GTP. Después de cada ciclo de iniciación, el eIF-2 se libera como un complejo bi-

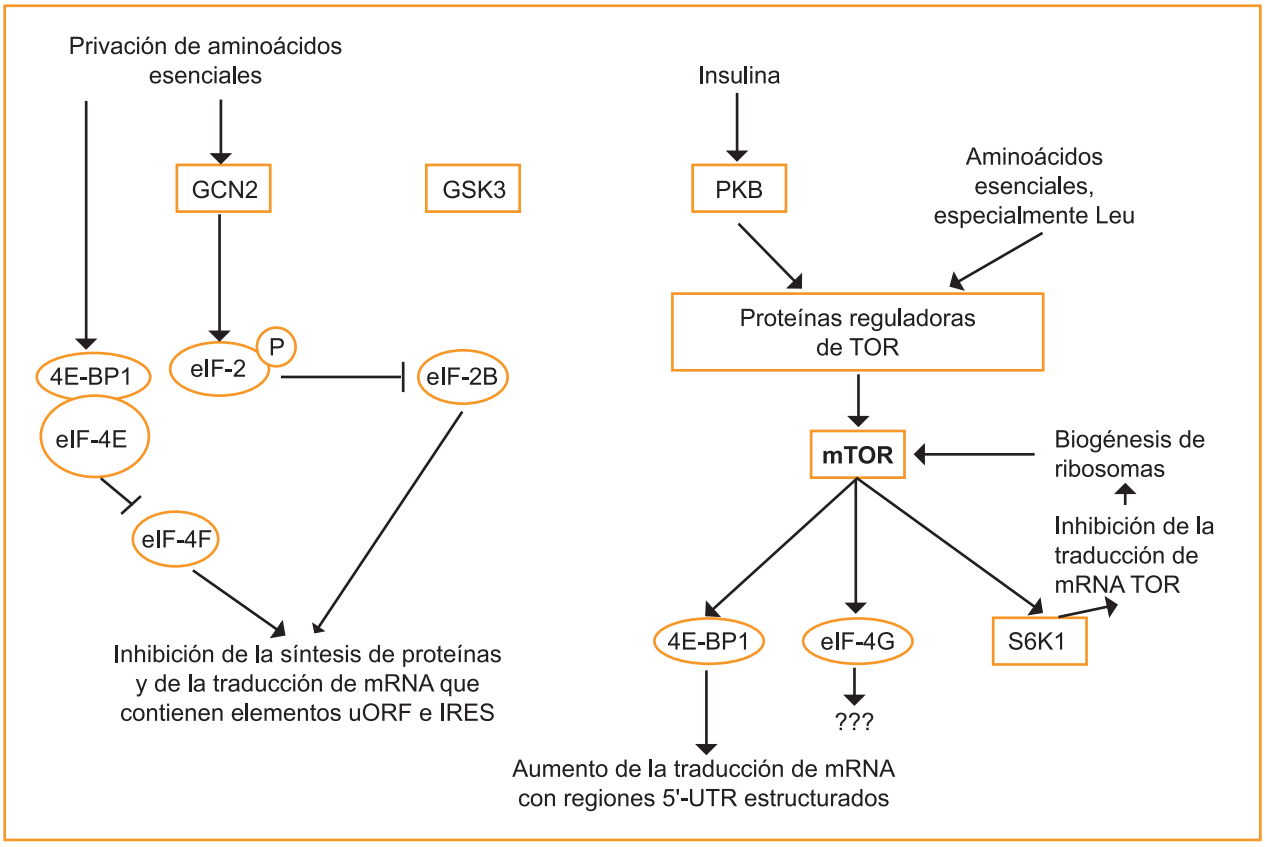


Figura 8. *Regulación de la síntesis proteica por la disponibilidad de aminoácidos. eIF-2: factor de iniciación de la traducción en los eucariotas; eIF-2B: factor de iniciación de la traducción en los eucariotas de intercambio de nucleótidos de la guanina; eIF-4E: proteína que se une a la caperuza m^7GTP del extremo 5' del mRNA; eIF-4F y eIF-4G: factores de iniciación de la traducción de los eucariotas; 4E-BP1: proteína de unión al factor eIF-4E; GCN2: kinasa-2 de control general no desrepresora; GSK3: glucógeno sintasa kinasa 3; mTOR: familia de kinasas, presentes en mamíferos, que tienen homología con la fosfatidilinositol 3-kinasa; PKB: proteína kinasa B; S6K1: S6 kinasa 1; TOR: kinasa diana de la rapamicina.*

nario unido a GDP, siendo intercambiado por GTP para poder funcionar en otra ronda de iniciación de la traducción. Esta reacción de intercambio de nucleótidos de la guanina está catalizada por otro factor de iniciación, el eIF-2B. Cuando el eIF-2α es fosforilado se forma un complejo con el eIF-2B que impide la unión del Met-RNA^{i} al ribosoma y de esta manera se inhibe la síntesis proteica.

Aunque la fosforilación del eIF-2α lleva a la inhibición de la síntesis proteica, existen evidencias de que dicho proceso también conduce a la activación de la traducción de otros mRNA específicos. Así, la activación de la kinasa GCN2 por la ausencia de uno o más aminoácidos limitantes para el crecimiento da lugar a la activación de la vía de control general de los aminoácidos en levaduras y en mamíferos. Esta limitación en el suministro de aminoácidos conduce a la activación de la traducción del mRNA del GCN4, un factor de transcripción de genes implicados en la biosíntesis de aminoácidos y otras vías metabólicas relacionadas. El mRNA del GCN4 contiene un grupo o *cluster* de marcos abiertos de lectura corriente arriba del gen (uORF: ***u**pstream **O**pen **R**eading **F**rames*) responsables de la inducción (desrepresión) traduccional del GCN4, hecho que sucede únicamente cuando se alcanza un umbral en la fosforilación del eIF-2α, como resultado de la activación de la GCN2. La limitación de aminoácidos activa a esta kinasa a través de un mecanismo en el que está implicada la acumulación de tRNA desacilados.

Además del gen de levaduras GCN4, existen varios genes que están regulados por uORF. Por ejemplo, en la especie humana la S-adenosil-metionina descarboxilasa, una enzima clave en la síntesis

de poliaminas, así como los receptores del ácido retinoico, de los glucocorticoides y de los estrógenos y los receptores β_2-adrenérgicos.

Un modo alternativo de control de la expresión génica de la traducción mediada por la fosforilación del eIF-2α tiene lugar a través del reclutamiento del complejo de iniciación de la traducción por un codón de iniciación AUG situado en el interior del gen, más o menos cercano al extremo 3' del mRNA, denominado sitio interno de entrada del ribosoma (IRES: ***I**nternal **R**ibosome **E**ntry **S**ite*) (*ver Capítulo 1.6*). Aunque la existencia de IRES no es abundante en los genes de los seres superiores, sino en los virus, lo que permite que con un solo RNA se sinteticen varias proteínas, dichos elementos están presentes en algunos genes humanos como el factor de crecimiento endotelial vascular, el factor 1α inducible por hipoxia, la proteína kinasa C-δ, el factor básico de crecimiento de los fibroblastos, *c-myc*, el inhibidor de la apoptosis ligado al cromosoma X y la ornitina descarboxilasa. Parece que la fosforilación del eIF-2α es necesaria para la activación de la iniciación de la traducción mediada por IRES.

Existe otra kinasa denominada diana de la rapamicina (TOR: ***T**arget **O**f **R**apamycin*) que es capaz de fosforilar a tres proteínas implicadas en la unión del mRNA a la subunidad 40S del ribosoma. Éstas son: la proteína de unión al factor eIF-4E (4E-BP1: *eIF-4E **B**inding **P**rotein*), la proteína ribosómica 6S (rpS6: ***r**ibosomal **p**rotein **S6***) y el factor de iniciación de la traducción eIF-4G. Las TOR son una familia de kinasas, presentes tanto en invertebrados como en mamíferos (mTOR), que tienen homología con la fosfatidilinositol 3-kinasa (*ver Capítulo 1.5*). En los mamíferos, una de las principales funciones de las mTOR es coordinar la disponibilidad de nutrientes con el crecimiento celular y la proliferación (*ver Capítulo 1.32*) y están implicadas en la regulación de la unión de los mRNA a la subunidad 40S de los ribosomas.

Como se ha comentado en el Capítulo 1.6, la iniciación de la traducción está mediada por un complejo de factores de iniciación denominados eIF-4F, integrados por una helicasa de RNA (eIF-4A), una proteína que se une a la caperuza m^7GTP del extremo 5' del mRNA (eIF-4E) y una proteína que sirve de andamio (eIF-4G) para la unión con eIF-4a, eIF-3 y la proteína de unión a la cola de poli-A (PABP: ***P**oli **A** **B**inding **P**rotein*). La unión del eIF-4G al eIF-3 es de especial importancia porque es a través de esta interacción cuando se produce la unión del mRNA a la subunidad 40S del ribosoma.

El ensamblaje del complejo eIF-4F está regulado en parte por la asociación del eIF-4E con las denominadas proteínas de unión al eIF-4E (4E-BP), de las cuales la 4E-BP1 es el prototipo. El sitio de unión de las 4E-BP con el eIF-4E se solapa con el de eIF-4G, de manera que individualmente se pueden unir al eIF-4E, pero no ambos al mismo tiempo. Así, la unión del eIF-4E a la proteína 4E-BP impide la unión del mRNA al ribosoma, hecho que ocurre únicamente cuando la 4E-BP está hipofosforilada; las formas hiperfosforiladas de la proteína no se unen al eIF-4E. La hiperfosforilación de la 4E-BP ocurre en las células en cultivo cuando existe una privación de aminoácidos en el medio, y en particular del aminoácido esencial leucina, que es bloqueada por el inmunosupresor rapamicina. Un efecto similar se ha observado en el músculo esquelético de ratas en ayuno, en las que la provisión de proteína o de leucina estimula el ensamblaje del complejo eIF-4E y eIF-4G. Resultados similares se han obtenido en cerdos y en la especie humana, donde la administración de rapamicina o de leucina previene la fosforilación de la 4E-BP1 **(Figura 8)**.

Otro punto de control de la iniciación de la traducción en el que intervienen las mTOR es la fosforilación de la rpS6. Ésta es fosforilada directamente por una proteína denominada S6 kinasa 1 (S6K1), cuya actividad es, a su vez, regulada por la fosforilación en varios sitios, catalizada por la mTOR. En varios estudios iniciales se sugirió que la fosforilación de la rpS6 podría aumentar la síntesis proteica de manera global. Sin embargo, estudios más recientes sugieren que la fosforilación de dicha proteína aumenta la traducción de un conjunto de mRNA específicos que presentan un motivo estructural común: un segmento ininterrumpido de 7-15 pirimidinas adyacentes a la caperuza m^7GTP del extremo 5' del mRNA. Las proteínas codificadas por estos mRNA incluyen proteínas ribosómicas, el eIF-4G, PABP y el factor de elongación eEF-2, todas ellas proteínas implicadas en la propia traducción. Por otra parte, la rapamicina inhibe la transcripción del DNA ribosómico. Así pues, la mTOR controla la síntesis del rRNA y de las proteínas ribosómicas, o, lo que es igual, la biogénesis de los ribosomas. La propia traducción de la mTOR podría estar regulada por la fosforilación de la rpS6. Sin embargo, pa-

rece que son necesarias otras vías de señalización, como la dependiente de PI3K.

Nuevas evidencias han sugerido que los aminoácidos pueden regular una etapa de la iniciación de la traducción de manera independiente a la acción de la mTOR, ya que la rapamicina es capaz de atenuar pero no de suprimir completamente la estimulación de la síntesis proteica o el ensamblaje del complejo eIF-4E causado por la administración de leucina a ratas en ayuno. Estudios recientes sugieren que se necesita la presencia de insulina para la activación de la vía mTOR inducida por los aminoácidos de la dieta. Así, en ratas diabéticas la administración de leucina por vía oral aumenta la síntesis proteica muscular tan sólo en un 50% del valor observado en los animales sanos. Asimismo, en los animales diabéticos la leucina no es capaz de estimular la unión del eIF-4G al eIF-4E o la fosforilación de la 4E-BP1 o de la S6K1, mientras que sí lo hace en los animales controles. Los resultados de estos y otros estudios similares abundan en la idea de que la insulina mantiene un efecto permisivo en la señalización de los aminoácidos hasta las mTOR, al mantener un nivel mínimo de activación de la cascada de señales dependiente de PI3K-proteína kinasa B (PKB).

Un mecanismo por el cual se regula la actividad de las mTOR es la interacción con otras proteínas tales como las proteínas de los complejos de la esclerosis tuberosa, hamartina y tuberina (TSC1 y TSC2), dos proteínas supresoras de tumores, y la proteína reguladora asociada a las mTOR, denominada RAPTOR. Los aminoácidos promueven la disociación del complejo TSC1-TSC2 de las mTOR, lo que permite la fosforilación de éstas por la PKB. Aunque los mecanismos por los que la proteína RAPTOR modula la actividad de las mTOR no se conocen totalmente, se sabe que su unión es necesaria para que la mTOR fosforile eficientemente a las proteínas 4E-BP1 y S6K1. Asimismo, se conoce que la supresión de la expresión de RAPTOR suprime la activación de la S6K1 estimulada por leucina.

5.1.4. Regulación de la expresión de factores de crecimiento por aminoácidos y otros nutrientes

Los animales en periodo activo de crecimiento cesan en su desarrollo cuando ingieren una dieta inadecuada. El cese rápido del crecimiento no puede explicarse totalmente por un descenso en el suministro de combustibles metabólicos y de nutrientes de carácter plástico, así como por la disminución en la secreción de hormona del crecimiento (GH) y de otras hormonas implicadas en el desarrollo.

Los efectos directos de diferentes contenidos de proteínas en la dieta y de aminoácidos específicos sobre la expresión génica han sido muy poco estudiados. No obstante, los datos actuales indican que la expresión del gen que codifica para el factor de crecimiento análogo a la insulina (IGF-1: ***I**nsulin-like **G**rowth **F**actor*) en el ser humano está regulada por la disponibilidad de algunos aminoácidos. Los niveles de IGF-1 plasmáticos y de mRNA de IGF-1 hepáticos se correlacionan con la velocidad de crecimiento y están disminuidos cuando existe un déficit de nutrientes. Asimismo, los niveles de mRNA para las proteínas de fijación de IGF-1 (IGFBP) están aumentados. De hecho, en adolescentes con anorexia nerviosa, el eje GH-IGF está dramáticamente alterado y los cambios en el sistema periférico de IGF son independientes de las modificaciones de la secreción de GH (*ver Capítulo 1.4*).

Varios estudios realizados *in vitro* con líneas celulares hepáticas indican que la depleción de arginina, leucina o cistina induce la expresión de IGFBP-1 de forma dosis dependiente, de manera similar a lo que ocurre en pacientes humanos con kwashiorkor. Por otra parte, en ratas la restricción proteica durante la gestación conduce a alteraciones en la expresión de IGBP y de IGF-1, pero no de IGF-2, en el hígado. Además, la arginina induce la expresión del gen IGF-2 implicado en la generación y diferenciación de los microtúbulos en el músculo esquelético. Por otra parte, se ha descrito que el butirato, un ácido graso de cadena corta producido por la microbiota intestinal, aumenta la expresión de IGFBP-2, la cual se une ávidamente a IGF-2, mientras que regula negativamente la expresión de IGFBP-3, la molécula que se une más activamente a IGF-1. No obstante, aún no se conocen los mecanismos específicos, además de los señalados anteriormente con carácter general, por los que la ausencia de determinados aminoácidos modula directamente la expresión de los IGF.

La nutrición influencia la biosíntesis y secreción hepática de IGF e IGFBP, afectando directamente a los cambios proliferativos que tienen lugar en órganos específicos como el intestino y el sistema

inmune. Así, se ha demostrado que el IGF-1 aumenta la proliferación de células T y B y presenta una actividad quimiotáctica para los linfocitos T; además, las células intestinales producen IGFBP y, de esta manera, los enterocitos pueden influenciar la proliferación de los linfocitos de la mucosa.

5.2. Compuestos nitrogenados no proteicos

5.2.1. Poliaminas

Las poliaminas son derivados de la ornitina y de la metionina implicadas en la multiplicación y en el crecimiento celular. Las poliaminas más importantes son la espermidina y la espermina; aunque su precursor, la putrescina, sólo tiene un grupo amino, es también considerada como tal. Por sus múltiples cargas positivas, las poliaminas se unen con facilidad a los polianiones como el DNA y el RNA estabilizando a estas moléculas y contribuyendo a su empaquetamiento (*ver Capítulo 1.15*).

El modo por el cual las poliaminas estimulan el crecimiento no se conoce totalmente. Se ha observado que la inhibición de la síntesis de poliaminas en el intestino delgado aumenta la expresión génica del antioncogén *p53*, lo que se asocia a un paro de la fase del ciclo celular G1, aunque no se ha demostrado un efecto apoptótico concomitante. Así, parece que el descenso en el contenido de poliaminas en el intestino inhibe la renovación celular por modulación de la expresión génica.

Durante el ayuno prolongado en animales de experimentación o por efecto de la cirugía, se produce una reducción del peso de la mucosa y de los contenidos de DNA, proteínas y poliaminas; el contenido de putrescina se reduce en un 50% asociado a una disminución en la proliferación celular, y la inducción del crecimiento celular por realimentación coincide con un incremento rápido en la actividad de la ornitina descarboxilasa. La presencia de poliaminas es esencial en el proceso de reparación tanto de la mucosa gástrica como del intestino dañados, y su función es estimular la mitosis celular permitiendo la migración de células viables.

Se desconocen muchos de los efectos de las poliaminas exógenas en el intestino, pero no es descartable que estos compuestos, abundantes en algunos alimentos como la leche humana, puedan ejercer efectos decisivos en los procesos de diferenciación y crecimiento de los enterocitos directamente o indirectamente a través de cambios de la microbiota intestinal.

5.2.2. Nucleótidos

Los nucleótidos de la dieta desempeñan funciones fundamentales en el crecimiento y desarrollo de algunos tejidos con una tasa elevada de recambio tales como el intestino y sistema inmunológico. Así, numerosas evidencias indican que los nucleótidos exógenos modulan la proliferación celular y la diferenciación. Por ejemplo, los nucleótidos de la dieta afectan positivamente el crecimiento, desarrollo y reparación del intestino delgado de animales durante el destete, mientras que la administración de una dieta deficiente en nucleótidos a ratas jóvenes disminuye los contenidos de DNA y de proteína, y la actividad de disacaridasas, en el intestino delgado. Asimismo, la presencia de nucleósidos aumenta la actividad de las disacaridasas intestinales y la fosfatasa alcalina en líneas celulares embrionarias de intestino. Además, en ratas recién destetadas con diarrea crónica provocada por ingesta de lactosa, la suplementación de nucleótidos a la dieta aumenta el contenido de DNA y la actividad de las disacaridasas.

Por otra parte, los nucleótidos de la dieta influencian la maduración, activación y proliferación de los linfocitos, estimulan la función fagocítica de los macrófagos, modulan la respuesta de hipersensibilidad retardada, las respuestas a injertos y tumores, la producción de inmunoglobulinas y la respuesta a la infección (*ver Capítulo 1. 16*).

Le Leiko *et al.* describieron en los años 80 del pasado siglo que los nucleótidos de la dieta aumentaban la expresión del gen *HGPRT* en el intestino delgado, cuya proteína, denominada hipoxantina fosforribosiltransferasa, cataliza la recuperación de bases púricas. Los niveles de mRNA de la HGPRT aumentan también en células embrionarias de rata IEC-18 en presencia de nucleósidos y se ha podido identificar una región de 35 pares de bases en el gen promotor de *HGPRT* responsable de la respuesta a nucleótidos, aunque se desconoce el factor de transcripción implicado.

Utilizando experimentos *in vivo* con dietas semipurificadas exentas o suplementadas con nu-

cleótidos recientemente se ha observado que la expresión de los genes de los transportadores activos CNT1 (que transporta preferentemente pirimidinas) y CNT2 (que transporta preferentemente purinas) se regula por el contenido nucleotídico de la dieta. En el caso del transportador CNT2, los niveles de mRNA y de proteína disminuyen tanto en intestino como en hígado cuando los animales se alimentan con una dieta exenta de nucleótidos. La expresión del transportador CNT2 está ligada al ciclo celular, y en condiciones de regeneración tisular, como en la hepatectomía parcial, se expresa de forma abundante en los hepatocitos. Para el transportador CNT1 se han encontrado niveles adicionales de regulación. Así, mientras en hígado el CNT1 se regula de igual manera que el CNT2, en el intestino se constata una reducción del mRNA con cantidades elevadas de proteína. Estos hallazgos sugieren que en el intestino existe una regulación postranscripcional para el CNT1 y que el comportamiento diferente respecto al hígado puede ser una consecuencia de la mayor capacidad biosintética de nucleótidos de este último órgano y la escasa capacidad de síntesis *de novo* del intestino. De esta forma, la regulación negativa en hígado ocurre cuando no existen nucleótidos disponibles en la dieta, mientras que determina una mayor captación en el intestino con objeto de compensar la baja capacidad de síntesis.

La regulación de la expresión de los transportadores de nucleósidos por la dieta es relevante en Nutrición Clínica, ya que numerosos fármacos utilizados en la terapia antiviral y anticancerosa son derivados nucleotídicos que utilizan estos transportadores.

En cultivos de intestino fetal humano, la adición de AMP al medio de cultivo suprime la proliferación de las células de las criptas, aumenta la diferenciación y hay una inducción de la apoptosis paralela a una mayor expresión del gen *Bax* y una menor expresión del gen *bcl-2*. Por otra parte, estudios recientes han puesto de manifiesto que la presencia de nucleósidos en el medio de cultivo de células embrionarias de intestino de rata IEC-6 disminuye la expresión del gen *RHO E*; este gen codifica una GTP-asa cuya expresión es elevada en células intestinales poco diferenciadas. Estos hallazgos indican que los nucleótidos de la dieta pueden contribuir al control del recambio celular intestinal dirigiendo la diferenciación de los enterocitos a través de la modulación de la expresión génica.

Por otra parte, los nucleótidos de la dieta influencian el patrón de expresión de marcadores antigénicos de superficie y de citokinas de las células linfoides intestinales, tanto de la lámina propia como de los linfocitos intraepiteliales y de las placas de Peyer (*ver Capítulo 1.16*). Este hecho es probablemente el responsable de la mayor producción de inmunoglobulinas observada en los recién nacidos alimentados con fórmulas lácteas suplementadas con nucleótidos. Se desconoce el mecanismo molecular por el que los nucleótidos afectan el patrón de secreción de citokinas en los linfocitos intestinales y en las células B-1 peritoneales, pero se piensa que la utilización activa de los nucleótidos exógenos por la vía de recuperación altera el *pool* intracelular de nucleótidos, lo que determina cambios en la expresión génica.

Los nucleótidos de la dieta también afectan el control de crecimiento y funcionamiento del hígado. El hígado puede mantener el *pool* de nucleótidos mediante síntesis *de novo* cuando no existe una provisión exógena de nucleótidos, pero en condiciones normales la síntesis por la vía de recuperación es muy activa. Así, la privación de nucleótidos en la dieta conduce a una menor síntesis proteica a través del descenso en el RNA y en el número de ribosomas, aunque se desconoce si los nucleótidos, y particularmente la carga energética, regulan la expresión de genes ribosómicos como ocurre en los organismos procariotas.

Como en el caso del intestino, se han descrito efectos reparadores y preventivos de los nucleótidos en modelos de daño hepático (*ver Capítulo 1.16*). Los nucleótidos de la dieta aumentan el porcentaje de hepatocitos binucleados y disminuyen la esteatosis y fibrosis en modelos animales de cirrosis hepática. El efecto antifibrogénico se debe a una inhibición de la expresión del factor inhibidor de las metaloproteasas (TIMP-1), aunque se desconocen los mecanismos moleculares implicados en este proceso. Al menos *in vitro* los nucleósidos exógenos modulan la expresión de genes de la matriz extracelular en células estelares hepáticas, así como de albúmina.

La adenosina, la guanosina y sus nucleótidos mono, di y trifosfato estimulan la proliferación de astrocitos de pollo y de líneas celulares humanas de astrocitoma. Los efectos están mediados a través de receptores purinérgicos P2Y, y pueden ser

abolidos mediante antagonistas de estos receptores.

Asimismo, la guanosina, el GTP y el ATP estimulan el crecimiento de neuritas y estimulan la liberación de factor de crecimiento nervioso (NGF) en un proceso mediado por receptores P1, o por P2X en el caso del ATP.

Además, los nucleótidos extracelulares UTP y UDP interaccionan con receptores del tipo P2Y en el endotelio vascular y generan una cascada de señales que da lugar a una vasodilatación y a la menor proliferación de las células del músculo liso de los vasos, un proceso que parece estar mediado por la presencia de varios factores de transcripción (*ver Capítulo 1.16*).

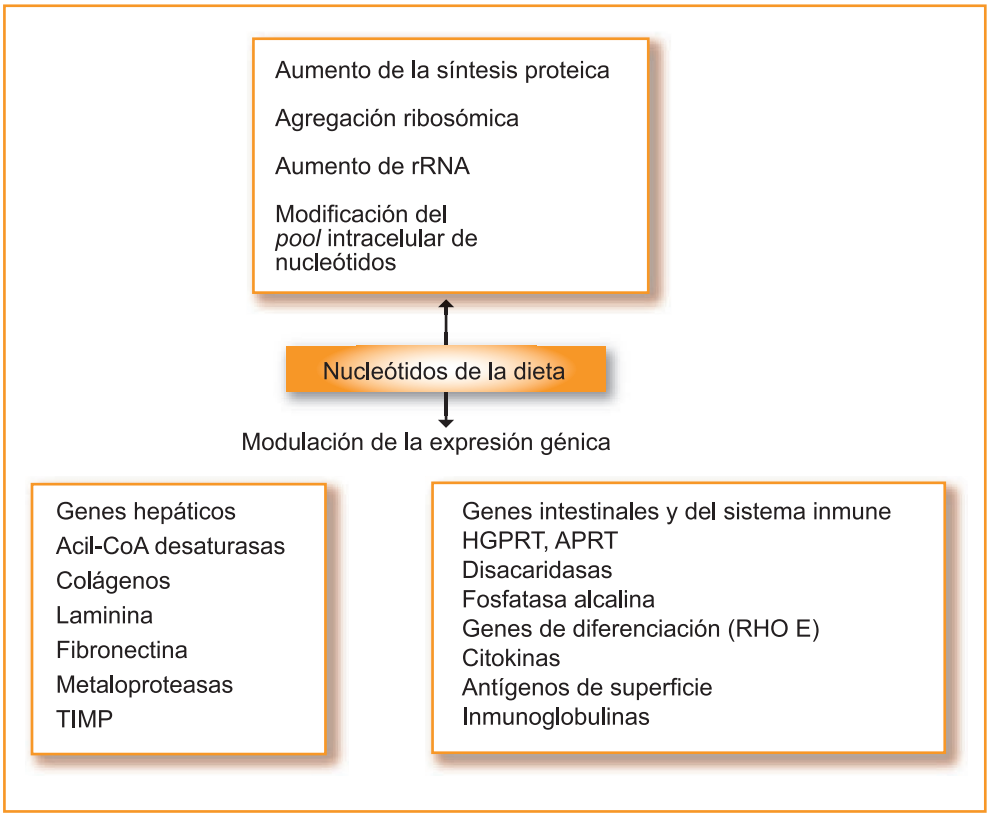


Figura 9. *Modulación de la expresión génica mediada por nucleótidos de la dieta. APRT: adenosina fosforribosiltransferasa; HGPRT: hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa; TIMP: inhibidores de las metaloproteasas.*

La **Figura 9** esquematiza los principales genes regulados por los nucleótidos de la dieta y los mecanismos implicados.

6. Regulación de la expresión génica por vitaminas y minerales

6.1. Vitaminas

Tanto la **vitamina A** como la **vitamina D** actúan como verdaderas hormonas y su acción sobre la expresión de muchos genes se ejerce por unión a receptores nucleares en numerosos órganos. En los Capítulos 1.23 y 1.24 se consideran con detalle los efectos fisiológicos de estas vitaminas, así como los mecanismos moleculares de actuación que influencian la expresión génica. No obstante, en las **Figuras 10 y 11** se muestra un esquema abreviado de las acciones de la vitamina A y D en la modulación de la expresión génica.

Las funciones fisiológicas y bioquímicas de la **vitamina E** han sido objeto de consideración en el Capítulo 1.20. Por lo que se refiere a las acciones de la vitamina E sobre la expresión génica, durante la última década se han acumulado evidencias de que el α-tocoferol inhibe la proliferación de las células del músculo liso de las paredes arteriales a través de la modulación de la actividad de la proteína kinasa C (PKC). Asimismo, se ha descrito que la vitamina E inhibe la PKC en muchos otros tipos de células tales como los monocitos, los neutrófilos, los fibroblastos y las células mesangiales. La inhibición de la PKC está ligada a la activación de la proteína fosfatasa 2A, que desfosforila a la subunidad α de la PKC.

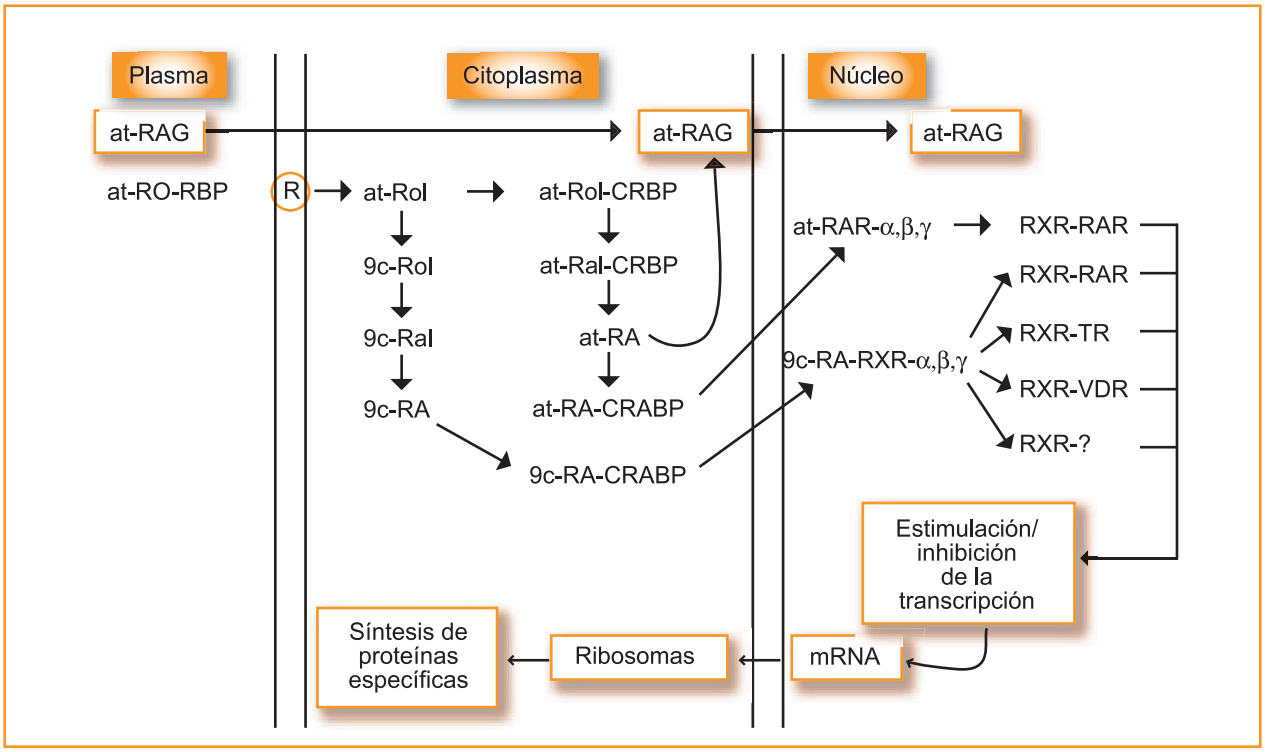


Figura 10. *Regulación de la expresión génica mediada por vitamina A. at:* all trans*; c:* cis*; CRABP: proteínas citosólicas fijadoras de ácido retinoico; CRBP: proteínas citosólicas fijadoras de retinol; RA: ácido retinoico; Ral: retinal; Rol: retinol; RAR y RXR: receptores de ácido retinoico.*

Por otra parte, se ha observado que tanto el α como el β-tocoferol inducen en el hígado la expresión de la proteína de transferencia de α-tocoferol. Además, los tocoferoles modulan la expresión del colágeno α1 y de la colagenasa, así como los genes que codifican para la α-tropomiosina.

Recientemente, se ha descubierto que el α-tocoferol regula la expresión génica a través de un factor de transcripción asociado a tocoferoles (TAP: ***T**ocopherol **A**ssociated **P**rotein*). No obstante, la acción inhibidora de la vitamina E en la activación del factor de transcripción nuclear de los linfocitos B (NF-κB), un potente mediador de la inflamación involucrado en la expresión génica de varias citokinas (TNF-α e IL-1), factores de crecimiento (M-CSF, G-CSF), quimioatrayentes (MCP-1) y moléculas de adhesión (ICAM-1 y VCAM-1), parece ser debido a la inhibición de la translocación desde el citoplasma al núcleo.

En los últimos años, se ha observado que algunas vitaminas hidrosolubles actúan como moduladoras específicas de la expresión génica. Dentro de este grupo se encuentran la biotina, la vitamina B_6 y la vitamina C, cuyas propiedades fisiológicas y bioquímicas han sido consideradas detalladamente en los Capítulos 1.20 y 1.21.

La deficiencia de **biotina** causa tasas disminuidas de proliferación celular, función inmune dañada y desarrollo fetal anormal. Estudios de expresión génica han sugerido que la biotina afecta a la transcripción de los genes que codifican citokinas. Así, la suplementación con biotina en adultos sanos disminuye la secreción de citokinas del tipo IL-2 e IL-l en células mononucleares periféricas humanas y sus receptores.

Asimismo, la biotina afecta la expresión de genes implicados en el metabolismo de la glucosa, induciendo la transcripción del gen de la glucokinasa, mientras que reprime el gen que codifica la PEPCK, produciendo efectos comparables a la acción de ciertas hormonas. Además, la biotina afecta a la expresión del receptor de la asialoglicoproteína (ASGR) y al receptor de la insulina, a nivel postranscripcional.

Por otra parte, la biotina actúa como modulador de la expresión génica de las proteínas implicadas en su transporte o en su acción como grupo

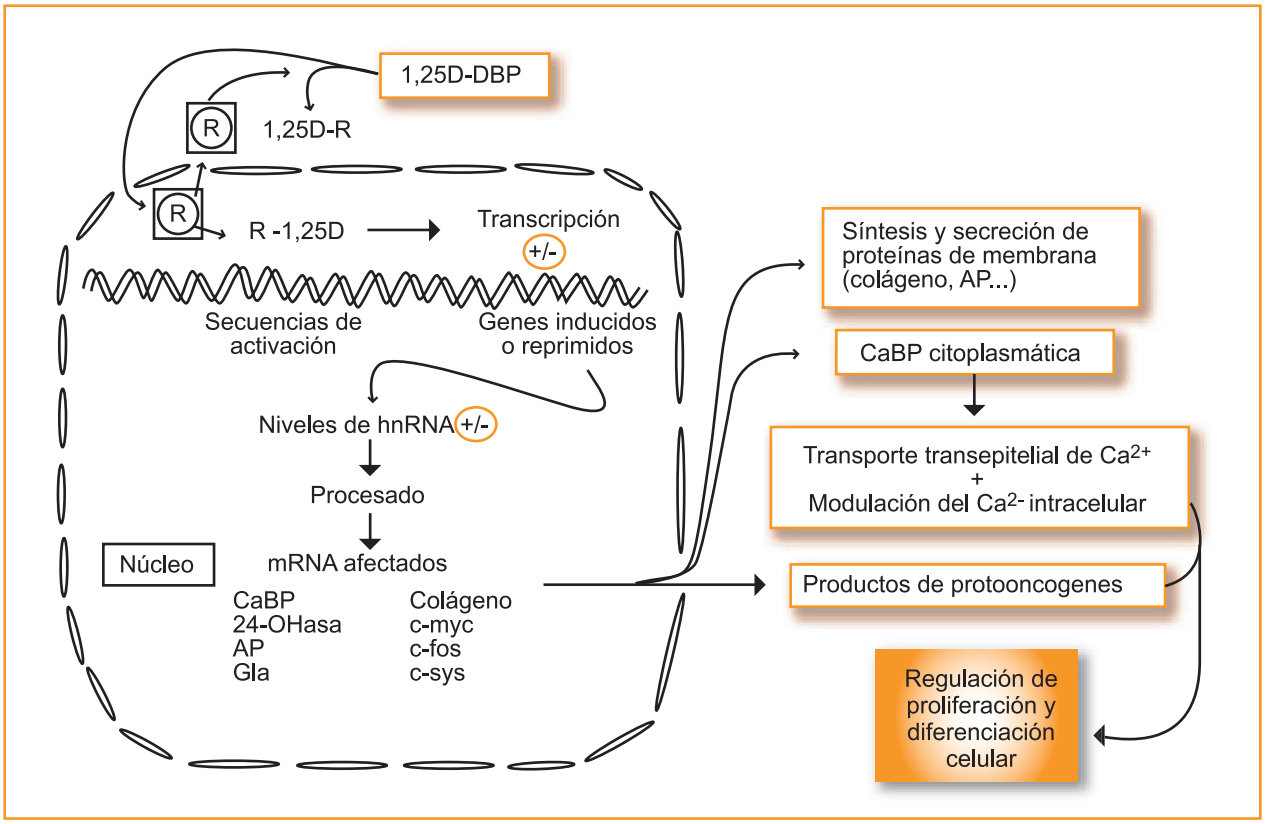


Figura 11. *Regulación de la expresión génica mediada por vitamina D. AP: fosfatasa alcalina; 1,25D-R: receptor de 1,25 dihidroxicolecalciferol. CaBP: proteína de unión a calcio; 24-OHasa: 24 hidroxilasa de calciferol.*

prostético, tales como la propionil CoA carboxilasa (PCC) y la metil-crotonil CoA carboxilasa (MCC) a nivel postranscripcional, y a nivel transcripcional sobre la holocarboxilasa sintetasa (HCS). Se ha propuesto una ruta dependiente de HCS que regula la expresión de los genes que codifican las carboxilasas biotina dependientes **(Figura 12)**.

La biotina también actúa biotinilando histonas que por analogía con otras modificaciones de estas proteínas, podría llevar a un aumento de la transcripción del DNA. Así, se ha demostrado que la biotinilación de histonas ocurre *in vivo* en células humanas, y que hay una biotinilación aumentada en respuesta a la proliferación celular.

La **vitamina B_6** influye sobre diferentes propiedades bioquímicas de los receptores de hormonas esteroideas, pudiendo servir como modulador de acción de estas hormonas y por tanto regular la expresión génica de un sinfín de proteínas. Varios estudios realizados tanto en tejidos como en homogenados celulares, han demostrado que el piridoxal-fosfato (PLP) influye sobre diferentes propiedades bioquímicas de los receptores de hormonas esteroideas, incluyendo su conformación molecular, su carga superficial y la susceptibilidad a la proteólisis. Además, el PLP afecta tanto a la localización subcelular como a la capacidad de unión al DNA de los receptores esteroideos. Asimismo, el PLP modula la expresión de una amplia gama de genes respondedores a hormonas. Los detalles de los mecanismos responsables se hallan en proceso, pero se sabe que reprime a nivel transcripcional la expresión de genes que codifican los receptores de las hormonas esteroideas.

Por otra parte, se ha propuesto que la vitamina B_6 actúa como modulador de la expresión del gen de la albúmina por un mecanismo que implica la inactivación de factores de transcripción específicos de tejidos por la interacción directa con PLP.

El **ácido ascórbico** se requiere para la expresión del colágeno, posiblemente aumentando directamente la transcripción por la interacción con un elemento *cis*-

regulador ácido ascórbico-específico en los genes del procolágeno. Además, se ha observado que el ácido ascórbico actúa como represor de la expresión del gen de la colagenasa IV o metaloproteasa 2 (MMP-2) a nivel transcripcional, sugiriéndose que la deficiencia de esta vitamina pueda ser un factor significativo en la degradación elevada de colágeno observada en mujeres embarazadas con ruptura prematura de la membrana amniótica.

Por otra parte, la deficiencia de esta vitamina, disminuye las concentraciones del mRNA de la apopoliproteína A-I (apo A-I) en hígado, principal proteína constituyente de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), involucrada en la activación de la enzima colesterol aciltransferasa. Además, en cobayas se ha observado que el déficit de ácido ascórbico disminuye la expresión de mRNA del citocromo P-450, específicamente de los subtipos 1A1 y 1A2.

Se ha observado que, en células cultivadas de neuroblastoma, la presencia de ácido ascórbico da lugar a un aumento considerable en la expresión del gen de la tirosina hidroxilasa, mientras que la expresión del gen de la dopamina hidroxilasa no se altera, dando como resultado la síntesis aumentada de 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA) y dopamina.

Estos resultados sugieren que el ácido ascórbico quizá sea un componente dietético útil en el tratamiento de la enfermedad temprana de Parkinson.

6.2. Minerales

Varios elementos metálicos considerados nutrientes como cobre, zinc y hierro, y algunos no nutrientes, como el cadmio, el arsénico y el mercurio, actúan modulando la expresión génica, agrupándose en tres clases según su modo de acción:

• La **primera clase** es estructural: los metales facilitan la conformación necesaria a determinadas proteínas, lo cual permite su interacción específica con varios ligandos, incluido el DNA. Un ejemplo son las proteínas en forma de "dedos de zinc" característica de muchos factores de transcripción que interaccionan con hormonas tales como el ácido retinoico, el calcitriol, las hormonas esteroideas o las hormonas tiroideas, aunque hay que resaltar que no todas las proteínas con dedos de zinc están implicadas en la regulación génica.

• La **segunda clase** corresponde a las metaloenzimas, en las que el elemento metálico forma parte del centro activo. Aquí se encuentran las RNA polimerasas I, II y III, que tienen zinc como grupo prostético.

• La **tercera clase** está constituida por los metales traza que actúan como elementos reguladores de transcripción o de la traducción. En esta clase se incluye la regulación de la expresión génica del receptor de la transferrina y de la ferritina por hierro.

La acción que ejercen los metales sobre el DNA puede ser directa, a través de la ac-

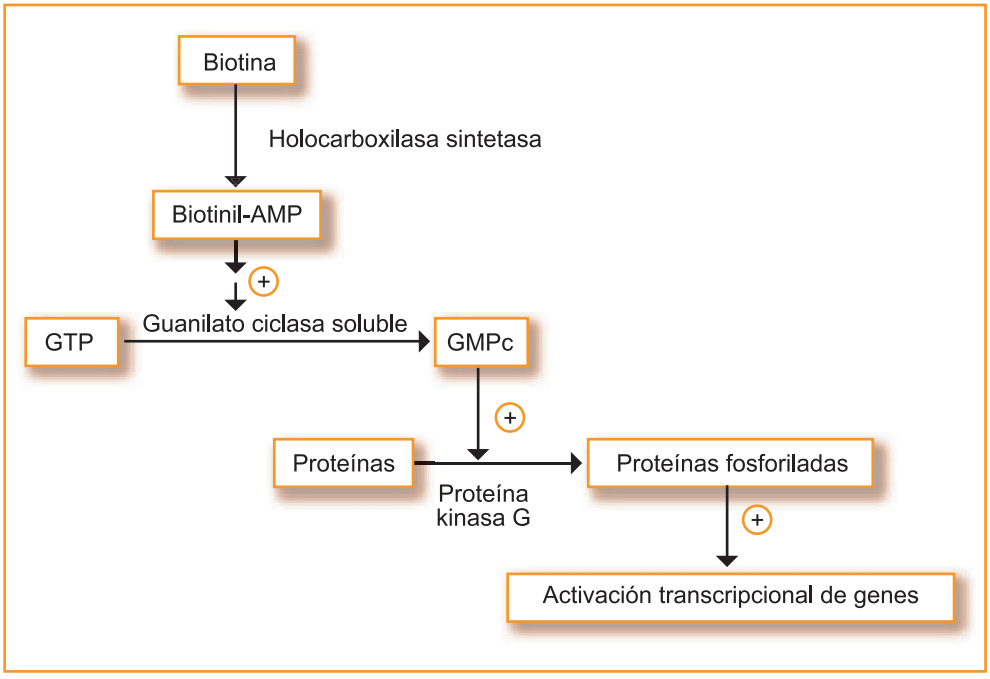


Figura 12. *Regulación de la expresión génica mediada por biotina.*

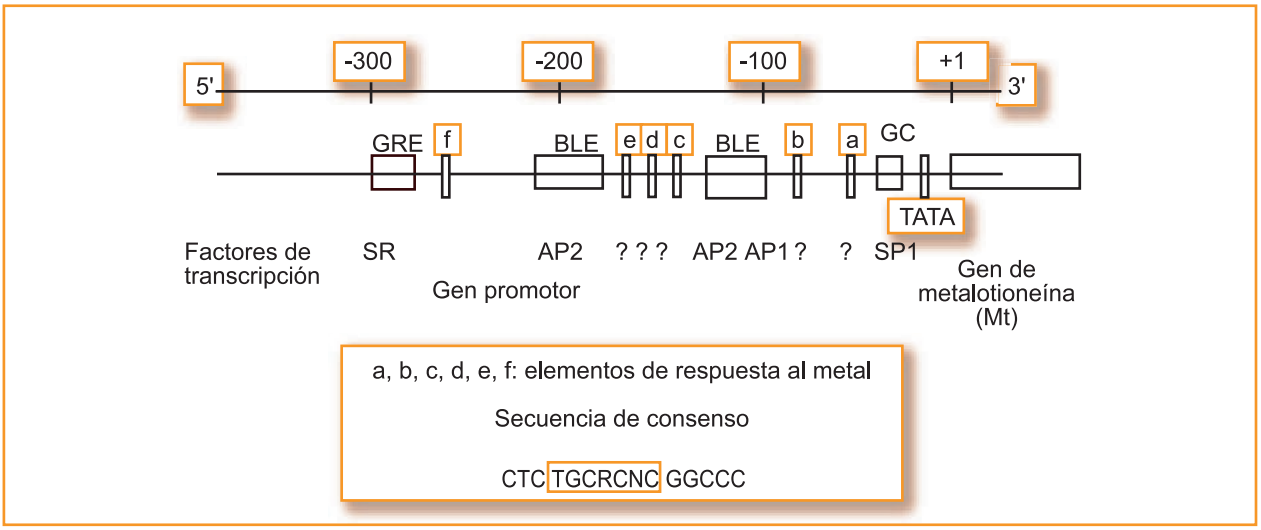


Figura 13. *Región reguladora del gen de la metalotioneína humana. El promotor contiene varios elementos de regulación a los cuales se unen factores de transcripción. GRE: elemento de respuesta a glucocorticoides; BLE: elemento de nivel basal; GC: caja GC; TATA: caja TATA.*

tivación de factores de transcripción, o indirecta, a través de segundos mensajeros, caso del calcio, AMPc o tirosina kinasas.

La presencia de cantidades relativamente elevadas de metales en la célula, derivada de una ingesta excesiva, conduce a la expresión de unas proteínas denominadas metalotioneínas (MT). Asimismo, algunas citokinas, factores tumorales y ciertas hormonas influencian la expresión génica de las MT, tanto *in vivo* como *in vitro*. Además, se observa un aumento de los niveles de MT en el hígado de animales sometidos a diversos tipos de estrés. Por otra parte, la síntesis de metalotioneína y las concentraciones fisiológicas aumentan transitoriamente de 4 a 6 veces durante la proliferación celular.

Las MT han recibido su designación por su contenido prominente de metales y de azufre, que alcanza el 20% de su peso. Las formas de los mamíferos tienen alrededor de 20 restos de cisteína (Cys) unidos a un total de siete equivalentes de iones divalentes del metal. Todas las Cys están en forma reducida y se coordinan con los iones metálicos a través de enlaces de tipo sulfuro, formando "racimos" de metal-tiolato.

Las MT son familias genético-polimorfas que comprenden varias subfamilias, cada una de ellas con varios subgrupos y, dentro de éstos, varias isoformas. En vertebrados todos los genes de la MT se dividen en una región que flanquea el extremo 5' (5'-UT), una región sin traducir 5' (5'UTR), 3 exones de codificación separados por 2 intrones, y un extremo 3'. Los mamíferos poseen los genes de cuatro subfamilias, el *Mt-1* y *Mt-2* ubicuos, el *Mt-3* específico del cerebro y el *Mt-4* en el epitelio escamoso. Todos están situados en un solo cromosoma, el 8 en el ratón y el 16 en el ser humano.

En la región 5'UT, todos los genes de las MT tienen una zona reguladora o gen promotor en el que abundan los MRE, los cuales interaccionan con una proteína metalorreguladora denominada en mamíferos factor de trascripción dependiente de metales (MTF-1: ***M**etal **T**ranscription **F**actor-1*), factor de unión a metales (MBF-1: ***M**etal **B**inding **F**actor*), proteína de unión a MRE (MRE-BP: ***MRE B**inding **P**rotein*) o proteína activada por zinc ZAP (***Z**inc **A**ctivated **P**rotein*). El zinc parece que se une a las proteínas reguladoras creando una estructura tetraédrica que permite su unión a los MRE. Asimismo, en el promotor existen otros elementos *cis* de respuesta a hormonas esteroideas, tiroideas y a varios factores de transcripción generales **(Figura 13)**.

El **zinc** y otros elementos metálicos traza, como el **cobre** y el cadmio, están implicados en la regulación de la expresión de varios genes a través de MRE (*ver Capítulo 1.29*).

La restricción de cobre en la dieta causa una cardiomiopatía hipertrófica similar a la inducida por sobrecarga del trabajo en ratones modelo. En

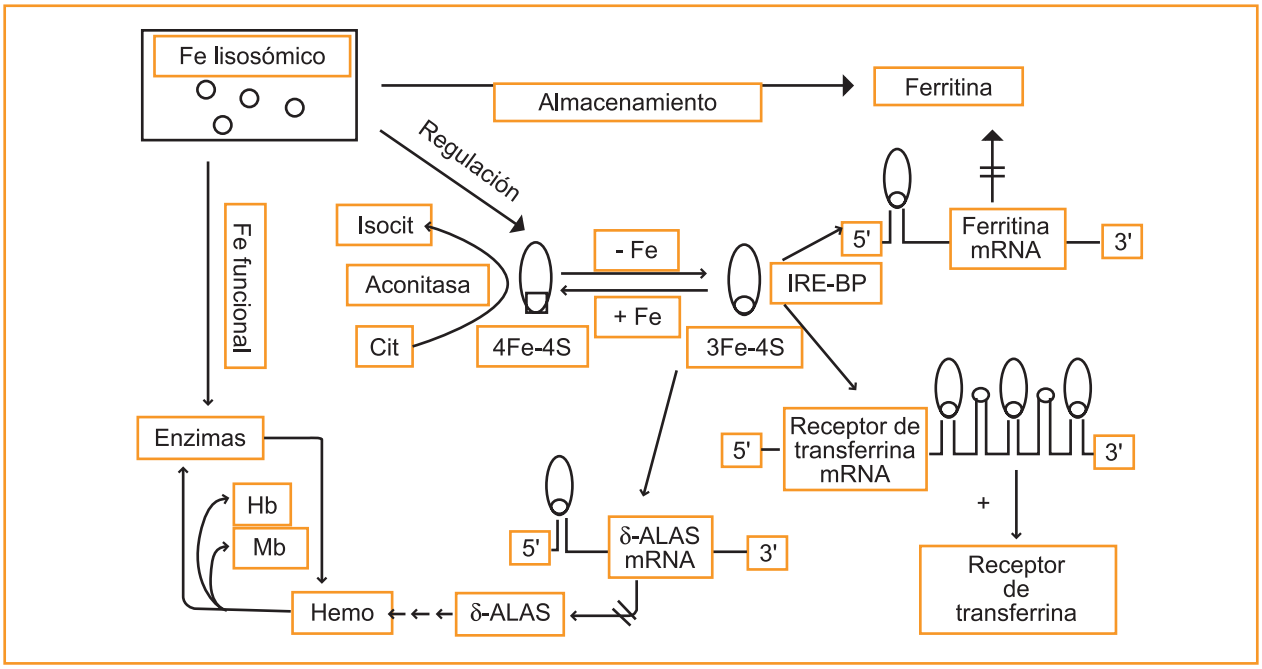


Figura 14. *Regulación de la expresión génica en la biosíntesis de hemo, ferritina, y receptor de transferrina mediada por hierro. ALAS: aminolevulínico sintasa; Cit: citrato; Isocit: isocitrato; Hb: hemoglobina; IRE-BP: proteína de unión al elemento de respuesta al hierro; Isocit: isocitrato; Mb: mioglobina.*

los ventrículos izquierdos aumentan los mRNA del péptido natriurético atrial y de la cadena pesada de la β-miosina, así como la actina del citoesqueleto. Además, la deficiencia del Cu activa la expresión del oncogén *c-myc* en el ventrículo izquierdo.

Por otra parte, el selenio influencia la expresión de varias selenoproteínas de importancia fisiológica, entre las que se encuentran las glutatión peroxidasas, las yodotironina deyodinasas, las tiorredoxina reductasas, la selenofosfato sintetasa-2 y las selenoproteínas N, P, R, T, W y X.

La biosíntesis de estas proteínas es dependiente de la biodisponibilidad de selenio y, en consecuencia, de la formación de tRNA-selenocisteína. En la deficiencia de selenio, el codón UGA es interpretado como un codón de parada, lo que resulta en la terminación prematura de la cadena polipeptídica (*ver Capítulo 1.30*).

Por otra parte, utilizando microchips de DNA, se ha descrito recientemente que la deficiencia de selenio afecta también la expresión de la UDP-glucuroniltransferasa-1 y la isoenzima 2 de la bilirrubina UDP-glucuronosiltransferasa. Estas dos enzimas son conocidas por su papel importante en la detoxificación de xenobióticos. Además, también se induce el citocromo P-450 4B1 y la 12-lipooxigenasa del ácido araquidónico. Es bien conocida la regulación hepática postranscripcional de los receptores de la transferrina y de la ferritina por niveles de **hierro (Figura 14)**.

Los mecanismos detallados por los que el hierro modula la expresión de ferritina y de los receptores de transferrina han sido ya considerados detalladamente (*ver Capítulo 1.7*). La **Tabla 5** resume los genes cuya expresión génica se regula por hierro.

7. Regulación de la expresión génica por otros componentes alimentarios

7.1. Factores proteicos de la leche humana

Una alteración en el fenotipo de los enterocitos secundaria a la presencia de determinados factores nutricionales puede representar varias ventajas. Así, en los mamíferos, la leche materna, además de ser una fuente excepcional de nutrientes, contiene toda una serie de factores específicos que

Tabla 5. GENES REGULADOS POR HIERRO

Forma de Fe	Regulador	Nivel	Gen modulado
Fe	?	Trc	Ferritina
Fe	IRE-BP	Trd	Receptor transferrina
Fe	IRE-BP	Trd	Ferritina
Fe	IRE-BP	Trd	ALAS
Fe	IRE-BP	Trd	Aconitasa
Hemo	?	Trc	ALAS, citocromo P-450 *b/c*
Hemo	HPX	Trc	Hemooxigenasa
Hemo	HPX	Trc	Metalotioneína
Hemo	HCI	Trd	β-globina
Hemo	HRM	Trd	ALAS

IRE-BP: proteína de fijación al elemento de respuesta a Fe; Trc: transcripcional; Trd: traduccional; ALAS: aminolevulinato sintetasa.

determinan un patrón de expresión génica particular que influencia el desarrollo y la maduración del epitelio intestinal. En segundo lugar, el intestino puede adaptarse a absorber nutrientes de una manera más eficiente si las enzimas digestivas y los transportadores son regulados positivamente por la ingesta repetida de un nutriente particular. En tercer lugar, si los genes afectados en el epitelio son importantes bajo el punto de vista inmunológico, el intestino podría influenciar las respuestas inmunes de las mucosas y, por consiguiente, el sistema inmune sistémico.

La leche humana contiene, además de todos los nutrientes necesarios para el crecimiento del lactante, numerosos factores proteicos que influencian la expresión génica. Varios factores de crecimiento y hormonas, como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), aumentan la actividad enzimática del borde en cepillo de los enterocitos y su crecimiento y diferenciación. El EGF actúa sinérgicamente con los hidratos de carbono de la dieta y los glucocorticoides, aumentando la actividad de la sacarasa, e incrementa la síntesis de DNA en el epitelio intestinal, especialmente durante la fase de lactación.

Por otra parte, la lactoferrina, una proteína resistente a la acción proteolítica de las enzimas digestivas, responsable de la mayor biodisponibilidad del hierro en los niños alimentados al pecho, aumenta la expresión de sus receptores en células intestinales deplecionadas de hierro, elevando la cantidad de hierro transportado a los enterocitos. Además, la lactoferrina actúa como un factor de proliferación para linfocitos, fibroblastos de embrión de ratón y de rata, células de cripta de rata y células humanas HT-29, y aumenta la actividad de sacarasa y fosfatasa alcalina dependiendo de su grado de saturación con hierro. La lactoferrina se une a sitios específicos del DNA en linfocitos cultivados *in vitro*; existe, por tanto, la posibilidad de que la lactoferrina de la leche humana entre en la célula intestinal a través de la internalización de su receptor y afecte varios genes implicados en la proliferación y la diferenciación celular.

7.2. Isoflavonas

Las isoflavonas son un tipo de flavonoides, caracterizadas porque en su estructura básica tienen dos anillos aromáticos unidos por tres carbonos y varios de los carbonos de los anillos A y B están hidroxilados, lo que les confiere propiedades antioxidantes (*ver Capítulo 1.20*). Las isoflavonas están presentes en los alimentos principalmente como glucósidos, pero durante la digestión se liberan los aglicones. En la soja, los aglicones principales son la daidzeína, la genisteína y la gliciteína, los cuales son absorbidos en una proporción relativamente baja (10-50%) y excretados por la orina principalmente en forma de glucurónidos y de sulfatos, aunque una parte de ellos sigue la circulación enterohepática.

Las isoflavonas, a menudo llamadas fitoestrógenos, se unen a los receptores de estrógenos

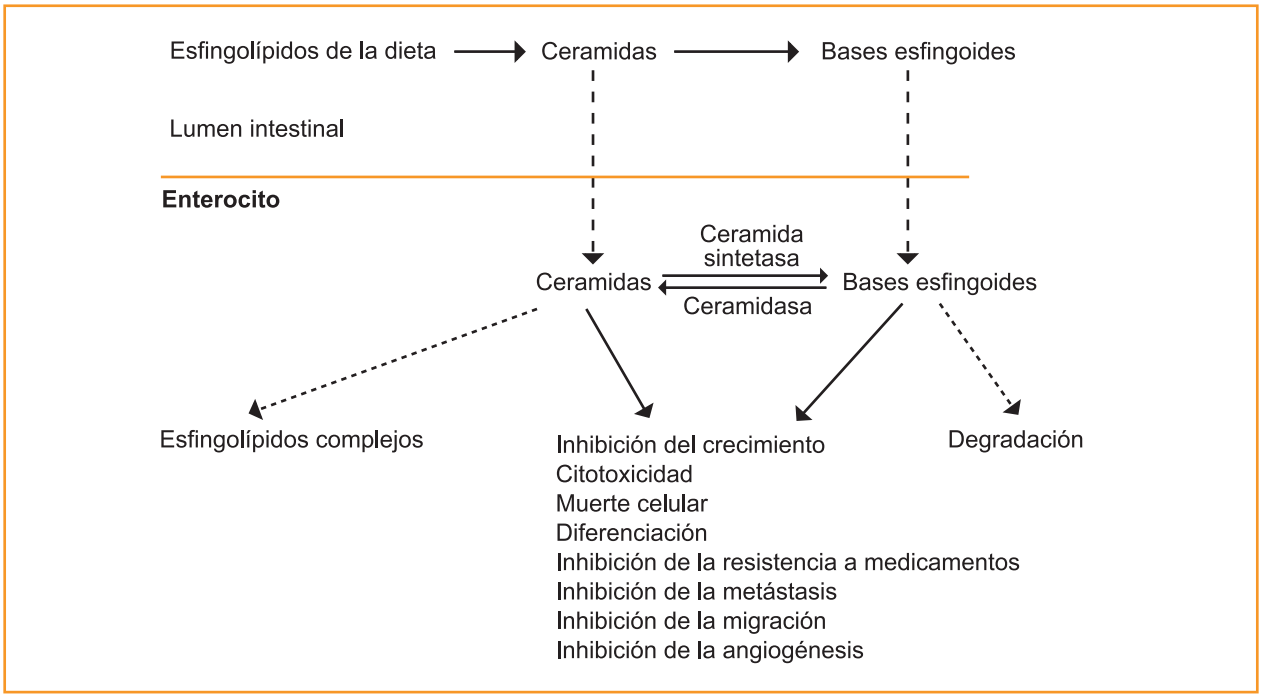


Figura 15. *Efectos biológicos de los esfingolípidos de la dieta.*

actuando como agonistas antagonistas o moduladores de la acción estrogénica, dependiendo del tejido, del tipo y concentración de la isoflavona y del estado hormonal del sujeto.

Dado el papel de las hormonas esteroideas, y particularmente de los estrógenos, en el crecimiento y diferenciación de numerosos tejidos, las isoflavonas pueden ejercer efectos diversos sobre la expresión génica. En cualquier caso, su potencia es menor que la de los estrógenos, y preferentemente actúan más como agentes represores que como activadores de la expresión génica. Esto ha hecho que se recomiende su ingesta para limitar los síntomas de la menopausia y de ciertas enfermedades como la osteoporosis, las enfermedades cardiovasculares y el cáncer.

7.3. Esfingolípidos

Los esfingolípidos son componentes estructurales de todas las células eucarióticas localizados principalmente en las membranas, influenciando su estabilidad y fluidez. Durante las dos últimas décadas se ha descubierto el papel de los metabolitos de esfingolípidos como segundos mensajeros y su función en la regulación de un amplio espectro de procesos que regulan la proliferación y la muerte celular.

Los esfingolípidos son constituyentes minoritarios de los alimentos, aunque están presentes en cantidades relativamente elevadas en los productos lácteos, la carne, los huevos y las leguminosas; en los productos animales abunda la esfingomielina, y en los vegetales los cerebrósidos.

Los esfingolípidos no son nutrientes esenciales pero se ha observado que pueden influenciar la respuesta inmunológica del sistema linfoide asociado a las mucosas, particularmente del intestino delgado, y tienen un papel quimiopreventivo en el cáncer experimental de colon y de piel. No obstante, se desconocen los mecanismos moleculares de estos efectos, si bien parece que la principal acción se debe a una inducción de la apoptosis mediada por la inhibición de la PKC y, posiblemente, a la regulación de la expresión de la β-catenina, una proteína de adhesión celular que conecta la cadherina-E a la actina del citoesqueleto. La **Figura 15** muestra un esquema de los efectos posibles de los esfingolípidos de la dieta como agentes anticancerosos.

8. Resumen

- Numerosos componentes de los alimentos pueden regular diversos aspectos de la fisiología individual por interacción directa o indirecta con el genoma. En la actualidad, la tecnología de la era genómica ha proporcionado nuevas y poderosas herramientas, posibilitando a los científicos cambiar el enfoque reduccionista tradicional de investigar los efectos de un solo nutriente sobre un sistema biológico, por uno mucho más amplio, en donde se pueden explorar los efectos moleculares de uno o varios nutrientes en organismos biológicos completos.

- La Nutrigenómica es la ciencia que trata de facilitar una explicación a nivel molecular de cómo los nutrientes y otros componentes de los alimentos interaccionan con el conjunto de genes de un individuo y su repercusión sobre el estado de salud. Ejemplos claros de las interacciones entre genoma y dieta se encuentran en la obesidad, la diabetes mellitus de tipo 2, las enfermedades cardiovasculares, la intolerancia a la lactosa y diversas patologías de carácter inflamatorio.

- La modulación de la expresión génica por nutrientes es un mecanismo de adaptación que permite a los organismos sobrevivir en unas condiciones en las que el aporte de alimentos se realiza de forma intermitente. Los componentes de los alimentos afectan a la expresión génica de forma directa o indirecta actuando como ligandos de receptores que son factores de transcripción, siendo metabolizados y alterando la concentración de sustratos o de metabolitos intermediarios en diversas vías, y sirviendo como moléculas señalizadoras.

- Tanto la glucosa como la fructosa, sacarosa, galactosa, glicerol y almidón aumentan la actividad de lactasa y su mRNA en homogenados de mucosa de yeyuno. Asimismo, la glucosa modula la expresión génica de algunos transportadores como los GLUT-1 y 4, y de varios genes metabólicos implicados en la glucólisis, la gluconeogénesis y la lipogénesis, entre los que destacan los de la L-piruvato kinasa, glucosa-6-fosfatasa, acetil CoA carboxilasa y ácidos graso sintasa.

- Los ácidos grasos, tanto saturados como poliinsaturados, así como varios eicosanoides derivados oxidados de estos últimos, modulan la expresión de numerosos genes involucrados en la oxidación de los propios ácidos grasos en el hígado, el músculo y el tejido adiposo, la síntesis de colesterol y de ácidos biliares, la proliferación y diferenciación de los adipocitos, la respuesta inmune y la angiogénesis. Estos efectos se deben a la unión de los ácidos grasos o de sus derivados acil CoA y eicosanoides a receptores nucleares que actúan como factores de transcripción, entre los que se encuentran los receptores activados por proliferadores de los peroxisomas (PPAR) y los receptores hepáticos X (LXR). Asimismo, los oxiesteroles interaccionan con estos últimos aumentando la síntesis de ácidos biliares.

- Los aminoácidos regulan la expresión génica a través de mecanismos múltiples que incluyen la modulación de la actividad del eIF-2B, el ensamblaje del complejo eIF-4F y la alteración de la fosforilación de la rpS6. En cada caso, la traducción de los mRNA que codifican proteínas individuales es aumentada o disminuida, basándose en una región estructural no traducida del extremo 5' rica en pirimidinas. Para algunas proteínas reguladas por la kinasa mTOR, como la rpS6, la traducción inducida por la presencia de aminoácidos parece necesitar la presencia simultánea de insulina y la activación mínima de otras kinasas, como la PKB.

- La identificación reciente de proteínas que interaccionan con la mTOR y regulan su actividad ofrece nuevas vías para comprender la regulación de la traducción mediada por aminoácidos.

- Varias vitaminas (A, D, E, biotina, B_6 y ácido ascórbico) modulan la expresión de muchos genes por unión a receptores específicos en el caso de las vitaminas A y D, o por unión a factores de transcripción específicos, como es el caso de biotina, B_6 y ácido ascórbico. Por otra parte, varios minerales como zinc, cobre y cadmio, modulan la expresión de varios genes entre los que se encuentran aquellos que codifican para metalotioneínas, proteínas responsables de la captación y transporte de numerosos metales. Asimismo, el selenio modula la expresión génica de varias selenoproteínas y de algunos genes involucrados en el metabolismo de xenobióticos. También, el hierro interviene en la regulación postranscripcional de numerosos genes entre los que se encuentran los de la ferritina, el receptor de la transferrina y el de la δ-aminolevulínico sintasa.

9. Bibliografía

Fafoumoux P, Brnhat A, Jousse C. Amino acid regulation of gene expression. Biochem J 2000; 351: 1-12.
Excelente revisión sobre la regulación de la expresión génica mediada por la disponibilidad de los aminoácidos.

Gil Hernández A, Súarez García A, Fontana Gallego L, Sánchez Pozo, A. Regulación de la expresión génica mediada por nutrientes. En: Gil Hemández A, Ruiz López MD, Sastre Gallego A, Schwartz Riera S (eds.). Nutrición clínica: implicaciones del estrés oxidativo y de los alimentos funcionales. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 2001: 55-80.
Capítulo dedicado a la descripción de los efectos de los nutrientes sobre la expresión génica en los seres superiores con indicación de los mecanismos moleculares de actuación.

Girard J, Ferré P, Foufelle F. Mechanism by which carbohydrates regulate expression of gene for glycolytic and lipogenic enzymes. Annu Rev Nutr 1997; 17: 325-52.
Revisión muy detallada sobre los mecanismos por los que la glucosa regula la expresión de genes glucolíticos y lipogénicos.

Jump DB, Clarke SD. Regulation of gene expression by dietary fat. Annu Rev Nutr 1999; 19: 63-90.
Revisión sobre los efectos de los lípidos de la dieta, especialmente los ácidos grasos poliinsaturados, en la expresión génica.

Kilberg MS, Leung-Pineda V, Chen C. Amino acid dependent control of transcription in mammalian cells. Molecular Nutrition 2003; 2: 105-19.
Revisión actualizada sobre el control de la transcripción génica mediada por aminoácidos.

Kimball SR, Jefferson LS. Regulation of global and specific mRNA translation by oral administration of branched-chain amino acids. Biochem Biophys Res Comm 2004; 313: 423-7.
Revisión actual sobre el control de la traducción mediada por los aminoácidos de la dieta.

Leibiger B, Moede T, Uhles S, Berggren PO, Leibiger IB. Short-term regulation of insulin gene transcription. Biochemical Society Transactions 2002; 30: 312-7.
Revisión sobre los mecanismos de control de la expresión de insulina mediada por la glucosa.

Sanderson IR, Naik S. Dietary regulation of intestinal gene expression. Annu Rev Nutr 2000; 20: 311-8.
Excelente revisión sobre los efectos de los nutrientes en la regulación de la expresión génica a nivel intestinal.

Solorzano Vargas RS, Pacheco Álvarez D, León del Río A. Holocarboxylase synthetase is an obligate participant in biotin-mediated regulation of its own expression and of biotin-dependent carboxylases rnRNA levels in human cells. Proc Natl Acad Sci USA 2002: 5325-30.
Artículo en el que se propone el mecanismo de acción de la biotina en la expresión génica tanto de la holocarboxilasa sintetasa como de las carboxilasas biotina dependientes en el ser humano.

Soprano DR, Soprano KJ. Role of RARs and RXRs in mediating the molecular mechanism of action of vitamin A. Molecular Nutr 2003; 135-49.
Revisión muy actualizada sobre los efectos fisiológicos de la vitamina A y de sus receptores con indicación clara de los mecanismos moleculares que median la expresión génica, y en particular sus efectos sobre el cáncer.

Towle HC, Kaytor EN, Shih HM. Regulation of the expression of lipogenic enzyme genes by carbohydrate. Annu Rev Nutr 1997; 17: 405-33.
Revisión sobre la modulación de la expresión de genes lipogénicos mediada por glucosa y otros azúcares de la dieta.

Vaulont S, Vasseur-Cognet M, Kahn A. Glucose regulation of gene transcription. J Biol Chem 2000; 275: 31555-8.
Revisión muy detallada de los efectos de la glucosa sobre la expresión génica.

Zempleni J, Daniel H. Molecular Nutrition. CABI Publishing. Oxon, 2003.
Excelente libro que detalla los aspectos moleculares de la expresión génica mediada por los nutrientes y sus implicaciones clínicas.

10. Enlaces web

- nutrigenomics.ucdavis.edu
- www.onepersongenetics.com/nutrigenomics.html
- www.nugo.org
- www.mydna.com/genes/nutrigen
- www.nutragenomics.com/edu_workshop_index.htm
- www.wcfs.nl/webdb/AP/Nutrigenomics

1.32. Proliferación y muerte celular

Alberto Manuel Vargas Morales

Capítulo 1.32.

Proliferación y muerte celular

1. Introducción

2. Proliferación celular. Ciclo celular en eucariotas

2.1. Etapas del ciclo celular
- 2.1.1. Fase G_1
- 2.1.2. Fase S
- 2.1.3. Fase G_2
- 2.1.4. Fase M

2.2. Regulación del ciclo celular
- 2.2.1. Proteínas implicadas en el control del ciclo
- 2.2.2. Controles positivos sobre el ciclo celular
  - 2.2.2.1. Inicio de la fase S
  - 2.2.2.2. Entrada en mitosis
  - 2.2.2.3. Entrada en anafase
  - 2.2.2.4. Citocinesis
- 2.2.3. Controles negativos sobre el ciclo celular
  - 2.2.3.1. Tamaño celular y proliferación
  - 2.2.3.2. Control de la existencia de fragmentos de Okazaki
  - 2.2.3.3. Controles sobre daños en el DNA
  - 2.2.3.4. Controles sobre el huso mitótico

2.3. Variantes del ciclo celular eucariota
- 2.3.1. Endorreplicación
- 2.3.2. Meiosis
- 2.3.3. Ciclo celular en *Saccharomyces*
- 2.3.4. Ciclos de segmentación

2.4. Patologías asociadas a alteraciones del ciclo celular

3. Muerte celular. Apoptosis

3.1. Maquinaria proteica para la apoptosis
- 3.1.1. Proteasas
- 3.1.2. Nucleasas
- 3.1.3. Otras proteínas implicadas en la apoptosis
  - 3.1.3.1. Familia Bcl-2
  - 3.1.3.2. Proteínas adaptadoras
  - 3.1.3.3. Receptores
  - 3.1.3.4. Proteínas desencadenantes de la apoptosis
  - 3.1.3.5. Inhibidores de la apoptosis

3.2. Mecanismos de la apoptosis
3.2.1. Ruta intrínseca
3.2.2. Ruta extrínseca
3.2.3. Otros mecanismos implicados en la apoptosis
3.2.3.1. Mitocondrias
3.2.3.2. Núcleo
3.2.3.3. Retículo endoplásmico
3.2.3.4. Aparato de Golgi
3.2.3.5. Lisosomas

3.3. Patologías asociadas a alteraciones de la apoptosis

4. Resumen

5. Bibliografía

6. Enlaces web

Objetivos

- Conocer la terminología relacionada con el ciclo celular y la muerte celular programada.
- Entender los mecanismos por los que se producen estos procesos celulares.
- Estudiar, de manera general, la maquinaria proteica necesaria.
- Conocer los mecanismos moleculares implicados en la regulación.
- Valorar la importancia de la síntesis y degradación de proteínas en relación con el ciclo celular.
- Identificar las principales proteína kinasas y proteína fosfatasas relacionadas con la regulación del ciclo celular.
- Distinguir entre controles positivos del ciclo celular y puntos de control o bloqueo del mismo.
- Comprender la importancia fisiológica de la apoptosis.
- Aprender la existencia de las diferentes rutas que llevan a la apoptosis.
- Comprender las relaciones entre las alteraciones del ciclo celular y de la apoptosis con la aparición de cáncer u otras enfermedades.

1. Introducción

La célula es la unidad fundamental de los seres vivos. Todos los organismos están formados por células que se multiplican por división. Hay organismos que tienen una única célula (unicelulares) y otros están constituidos por un número variable de células (pluricelulares). Un individuo humano adulto contiene aproximadamente 100.000 billones de células originadas todas ellas a partir de una única, el óvulo fertilizado. Las células pueden ser **eucariotas** o **procariotas** en función de la existencia o no de compartimentación intracelular que determine la existencia del núcleo en el que se almacena el material genético. La mayoría de los organismos procariotas son unicelulares, aunque existen casos, como las cianobacterias, que forman colonias pluricelulares. Por el contrario, la mayoría de los organismos eucariotas son pluricelulares, aunque también existen especies unicelulares dentro de las levaduras y de los protozoos.

Un principio fundamental de la Biología, propuesto por Virchow en 1858, es que toda célula proviene de otra célula. El mecanismo proliferativo más empleado por los seres vivos es la división de una célula preexistente en dos células idénticas que mantienen íntegro el material genético de la especie, para lo que éste debe replicarse antes de la división celular, de manera que cada una de las células hijas posea el contenido génico adecuado. En el caso de los organismos unicelulares, la división de la célula significa la proliferación de la especie.

Sin embargo, la proliferación celular en los organismos pluricelulares tiene otro significado. En ellos, normalmente, la reproducción se produce a partir de una célula embrionaria que tras sucesivas divisiones, en las que determinados grupos de células se van diferenciando en tipos celulares, llega a conformar el individuo. Este complejo proceso que se produce de forma ordenada recibe el nombre de **desarrollo**.

Durante el desarrollo de los organismos pluricelulares y posteriormente durante la vida adulta de los individuos, el número de células constituyentes de cada uno de sus tejidos y órganos está regulado. El aumento en el número de células se produce únicamente por sucesivas divisiones mitóticas en un proceso muy definido bioquímicamente y perfectamente regulado conocido como **ciclo celular**. En muchas ocasiones, y por distintos motivos, se tienen que eliminar las células sobrantes de un tejido o aquellas que constituyan un riesgo para la integridad del organismo. Esto se realiza forzando la muerte celular por mecanismos específicos y también bajo estricta regulación. La muerte celular programada se conoce con el término de **apoptosis**. En la **Figura 1** se muestran las distintas etapas del ciclo celular y los destinos de las células en organismos pluricelulares.

En este Capítulo se va a estudiar la proliferación y la muerte celular programada en organismos eucariotas, haciendo especial énfasis en los aspectos implicados en su regulación. También se destacarán los aspectos nutricionales más pertinentes relacionados con ambos procesos.

2. Proliferación celular. Ciclo celular en eucariotas

Las células eucariotas proliferan por división mitótica. En los tejidos en los que se produce proliferación celular, cualquier célula está en mitosis o preparándose para su realización. El proceso fundamental para la preparación de la mitosis es la replicación del material genético, en la que se produce su duplicación. De esta forma, la alternancia de dos procesos en los que se duplica el genoma (las células pasan de ser diploides, con 2n cromosomas, a ser tetraploides, con 4n cromosomas), para posteriormente dividirse por 2 (las células pasan de 4n a 2n), mantiene la constancia en el contenido genético de las células descendientes. Estos procesos se repiten cíclicamente de forma ordenada, por lo que todo el conjunto de sucesos se conoce con el nombre de **ciclo celular**. En un momento determinado, cada célula está en alguna de estas dos etapas o preparándose para su realización, salvo que se encuentre diferenciada y no prolifere.

Los trabajos fundamentales sobre el ciclo celular realizados por Leland H. Hartwell, R. Timothy Hunt y Paul M. Nurse fueron recompensados con el premio Nobel en el año 2001.

2.1. Etapas del ciclo celular

Las dos etapas o fases fundamentales del ciclo celular son la mitosis y la replicación del DNA. Estas dos etapas se conocen con las letras M (de mitosis) y S (de síntesis). No se puede producir ninguno de estos procesos hasta que las células estén preparadas para su realización. Por este motivo existen espacios variables de tiempo entre ambas etapas, que se nombran como fases G (del inglés *gap*). El tiempo transcurrido desde el final de la mitosis hasta el inicio de la replicación del DNA se llama G_1, y el tiempo entre el final de la síntesis de DNA hasta el comienzo de la mitosis se llama G_2. Un esquema temporal de las fases del ciclo celular se muestra en la **Figura 1**. Todo el tiempo transcurrido entre el final de una mitosis y el comienzo de la siguiente se conoce como **interfase (Figura 1, línea punteada)**.

En algunos tejidos las células pueden salir temporal o definitivamente de este ciclo proliferativo. Las células que ni se están dividiendo ni están preparándose para la división se considera que están en fase G_0. Esto ocurre en células que van a diferenciarse terminalmente, como las neuronas o los hepatocitos, que realizarán sus funciones en el organismo hasta que mueran sin volver a entrar en las fases proliferativas. Ocurre también en otros tipos de células, como, por ejemplo, los linfocitos, que están en fase G_0 en la sangre circulante pero al encontrar un antígeno adecuado reciben los estímulos necesarios para la proliferación, entrando en la fase G_1 y pasando por las sucesivas fases del ciclo celular. Durante la fase G_0 no solamente hay una ausencia de señales positivas para el ciclo celular sino que existe una represión activa de los genes necesarios para su desarrollo.

2.1.1. Fase G_1

Se denomina así el periodo de tiempo comprendido entre el final del ciclo anterior, con la completa separación de las células hijas, hasta el comienzo de la replicación del DNA. Su duración es muy variable en función de la especie, del tejido y de las condiciones extracelulares. En su transcurso, la célula aumenta de tamaño hasta alcanzar el necesario para la nueva división.

Se puede dividir en tres subfases: G_{1a} o de entrada, G_{1b} o de progresión y G_{1c} o de ensamblaje. La subfase G_{1a} está caracterizada por una tasa elevada de transporte de nutrientes a través de la membrana plasmática y por el incremento en la actividad de las enzimas glicolíticas. En la subfase G_{1b} se produce una drástica inducción de muchos genes, observándose tasas muy elevadas de transcripción y de síntesis de proteínas. En ella, se sintetizan las proteínas necesarias para la replicación del DNA y algunas proteínas reguladoras esenciales. Finalmente, en la subfase G_{1c} se pro-

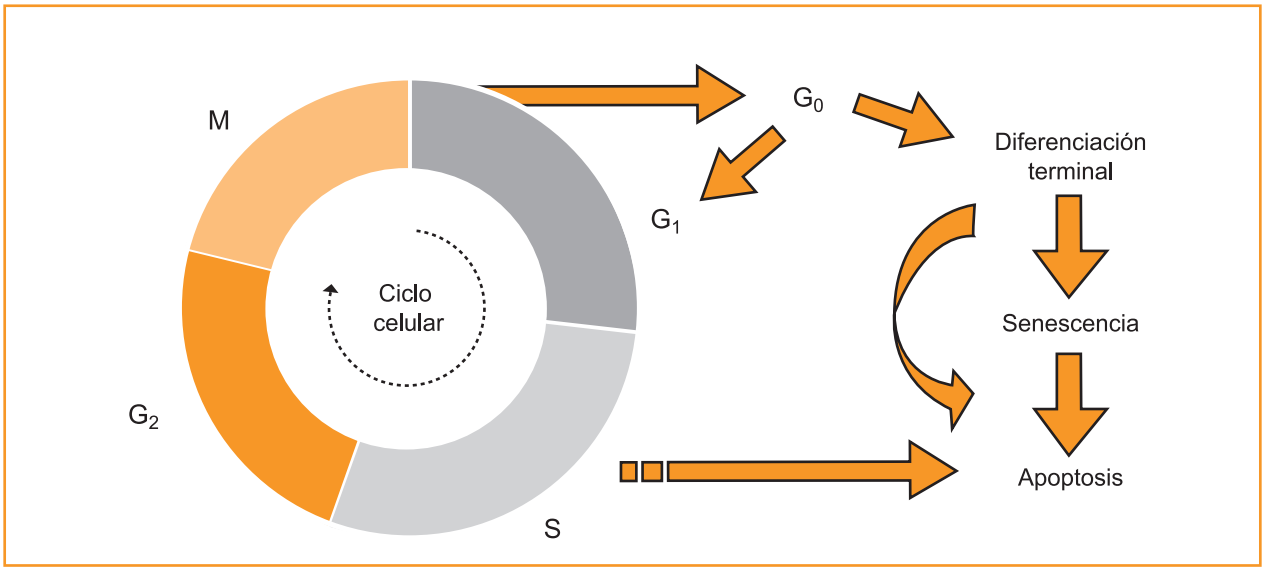


Figura 1. *Fases del ciclo celular y destino de las células eucariotas en organismos pluricelulares.*

duce un incremento en el transporte de proteínas al núcleo, donde se organizan para llevar a cabo la replicación del DNA.

En la fase G_1 se toman decisiones importantes para la progresión del ciclo celular y es cuando la célula se encuentra fundamentalmente susceptible a señales extracelulares como son los factores de crecimiento. Hay un punto en la fase G_1 que, si la célula lo sobrepasa, se dirige inexorablemente a la síntesis de DNA para la progresión en el ciclo celular. A partir de este momento, llamado **punto de restricción** en células animales o ***start*** en levaduras, las células dejan de responder a factores extracelulares.

2.1.2. Fase S

En esta fase del ciclo tienen lugar dos procesos moleculares esenciales: la replicación del DNA y la duplicación del centro organizador de microtúbulos o centrosoma, el cual va a ser responsable posteriormente de la formación del huso mitótico. Durante esta fase la célula no crece en tamaño. La duración temporal es variable en función de la especie, aunque es prácticamente constante en cada tipo celular.

Ésta es una fase muy bien regulada en la que existen numerosos puntos de control. No sólo deben encontrarse en el núcleo todas las proteínas necesarias para llevar a cabo la replicación, sino que debe producirse un mecanismo desencadenante de la misma. Además, existen controles temporales para que el inicio de la replicación en los diferentes replicones no se produzca simultáneamente.

La célula detecta la presencia de DNA no replicado y evita la progresión en el ciclo hasta que se ha completado la replicación de todo el genoma. Una vez finalizada la replicación existe otro mecanismo de control que impide el inicio de una nueva ronda de replicación antes de la división. Entre otras, una proteína llamada geminina es responsable de este proceso fundamental que evita la poliploidía. Se ha comprobado que en núcleos con el DNA totalmente replicado no se inicia nuevamente la replicación, ni cuando son transplantados a otras células en fase S. Este mecanismo de bloqueo es operativo hasta que se ha completado la segregación mitótica de los cromosomas.

2.1.3. Fase G_2

En este periodo, que se prolonga desde el final de la replicación del DNA hasta el inicio de la mitosis, existen múltiples mecanismos moleculares de control que aseguran de forma estricta que la célula está preparada para desencadenar la división. La duración de esta fase es variable aunque, en general,

no está determinada por la influencia de factores extracelulares. Una excepción a esta regla es la de las células germinales femeninas, los oocitos, que únicamente progresan en esta fase en presencia de progesterona. El tiempo que cada célula permanece en G_2 es dependiente del tipo celular y está determinado por condiciones internas relativas fundamentalmente al estado de los cromosomas.

2.1.4. Fase M

Cuando una célula eucariota se divide, debe asegurar que cada una de las células hijas reciba un conjunto completo de genes (en células diploides significan 2n cromosomas), un par de centriolos, algunas mitocondrias, ribosomas y parte del retículo endoplásmico. La división al azar del citoplasma garantiza con toda probabilidad que cada célula reciba mitocondrias, ribosomas y retículo. No ocurre lo mismo con los cromosomas, que deben ser equitativa y fielmente repartidos entre las dos células hijas, por lo que se necesitan mecanismos especiales para su división. Durante la fase M tienen lugar los dos procesos que completan la división celular: la mitosis, con la equipartición de los cromosomas y los centriolos, y la citocinesis o división citoplasmática.

La mitosis se considera generalmente dividida en cinco estadios consecutivos denominados profase, prometafase, metafase, anafase y telofase. En **profase**, el DNA replicado en la fase S, que permanecía en el estado relajado de la cromatina y parcialmente organizado por una proteína llamada cohesina, se condensa como cromosomas bien definidos con la participación de una proteína llamada condensina. Así, se forman díadas constituidas por cada pareja de cromátidas hermanas, cada una con un centrómero, adoptando así un estado que facilita su transporte. En el citoplasma se forma el huso mitótico a partir de los microtúbulos que se organizan mediante el centrosoma duplicado durante la fase S del ciclo.

La **prometafase** se caracteriza por la desintegración de la membrana nuclear. Esto hace accesibles los cromosomas a los microtúbulos citoplasmáticos del huso mitótico, que interaccionan con unos complejos proteicos específicos que se forman en los centrómeros, denominados cinetocoros. Durante la **metafase** sucede el posicionamiento correcto de las cromátidas hermanas, de forma que cada una de ellas se orienta hacia polos opuestos del huso mitótico. Al final de esta etapa todos los cromosomas permanecen alineados en el ecuador del huso, constituyendo la placa metafásica.

Comienza la **anafase** cuando una señal específica inicia la separación de los cinetocoros de cada cromátida hermana. La cohesina es degradada por una cascada de proteasas. El movimiento de los microtúbulos dirige las cromátidas hacia los polos opuestos de la célula, produciéndose la separación del material genético duplicado en dos lotes idénticos. Se inicia la **telofase**, cuando la segregación de los cromosomas se ha completado, con la reformación de las nuevas membranas nucleares y la descondensación del material genético hasta el estado interfásico de cromatina.

La división del citoplasma generalmente se solapa en el tiempo con las dos últimas etapas de la mitosis. En células animales, el proceso se inicia con la formación de un anillo contráctil de actina y miosina anclado a la superficie interna de la membrana plasmática. La contracción de esta estructura desarrolla la fuerza suficiente para segmentar paulatinamente la célula.

La finalización de la fase M con la completa separación de las dos células hijas en estado de interfase supone el final de un ciclo. El destino de las dos nuevas células será determinado por los mecanismos moleculares de regulación que ocurren en la fase G_1 del siguiente ciclo celular.

2.2. Regulación del ciclo celular

Todos los procesos del ciclo celular deben realizarse de acuerdo con una secuencia temporal perfectamente definida de sucesos que transcurren de forma unidireccional. Los mecanismos de control se establecen para regular el paso de una fase a otra y para evitar transiciones impropias entre las distintas fases. El control del ciclo reside en señales químicas que difunden entre el citoplasma y el núcleo, entre las que cabe destacar proteínas como las **ciclinas**, las proteína kinasas dependientes de ciclina **(CDK)** y diversas **proteasas**.

Las CDK y las ciclinas se han estudiado en levaduras, fundamentalmente en *Saccharomyces cerevisiae* y en *Schizosaccharomyces pombe*, y en el desarrollo de huevos de erizo de mar y de rana. Los principales tipos de CDK, de ciclinas y el punto que controla cada complejo CDK-ciclina están

Tabla 1. CICLINAS Y CDK MÁS IMPORTANTES DE VERTEBRADOS Y DE *SACCHAROMYCES*

Vertebrados		*Saccharomyces*		
Ciclina	**CDK**	**Ciclina**	**CDK**	**Complejo**
Ciclina D	CDK4, CDK6	Cln3	CDK1	G_1-CDK
Ciclina E	CDK2	Cln1,2	CDK1	G_1/S-CDK
Ciclina A	CDK2	Clb5,6	CDK1	S-CDK
Ciclina B	CDK1	Clb1,2,3,4	CDK1	M-CDK

CDK: proteína kinasas dependientes de ciclinas.

indicados en la **Tabla 1**. En levaduras, existe una única CDK que, asociándose a diferentes ciclinas en distintos momentos del ciclo celular, determina el progreso en los puntos de control. En vertebrados, existen varias CDK que se asocian específicamente a las diferentes ciclinas para controlar el ciclo.

La nomenclatura de estas proteínas todavía no está totalmente unificada pero, en general, los complejos formados por la asociación de las CDK a sus ciclinas específicas reciben el nombre de la etapa del ciclo que controlan. La actividad del complejo G_1-CDK participa en el paso del punto *start* o del punto de restricción al final de la fase G_1. Los complejos G_1/S-CDK y S-CDK preparan los cromosomas para la replicación del DNA y fuerzan su inicio. Finalmente, el complejo M-CDK promueve la mitosis.

Existen dos tipos de mecanismos de regulación fundamentales **(Figura 2)**. Uno de ellos se basa en controles positivos que fuerzan a la célula a progresar por las distintas fases del ciclo celular. El otro está fundamentado en controles negativos que impiden que la célula progrese en el ciclo cuando no se ha cumplido alguno de los requerimientos esenciales, evitándose, de esta manera, las transiciones prematuras.

2.2.1. Proteínas implicadas en el control del ciclo

Las **ciclinas** son proteínas cuya función es asociarse a proteína kinasas específicas del ciclo celular para permitir su actividad. Reciben este nombre porque sufren cambios bruscos de concentración asociados al progreso del ciclo. Fueron descubiertas en 1982 al estudiarse la síntesis de proteínas en huevos de erizo de mar. Se observó la presencia de proteínas que se acumulaban durante la interfase y que desaparecían a gran velocidad poco antes de la división de los huevos. Posteriormente, se ha identificado un gran número de ciclinas en diferentes especies. Todas las ciclinas contienen una región de homología muy conservada de aproximadamente 100 aminoácidos, llamada "caja ciclina". Es por esta región por donde interaccionan con la CDK apropiada.

Cada ciclina posee un patrón característico de síntesis y degradación dependiente del estadio del ciclo en el que actúa, por lo que se denominan ciclinas G_1 y ciclinas mitóticas o ciclinas M. Las ciclinas G_1 contienen en la zona carboxilo de la caja ciclina secuencias prolina-glutámico-serina-treonina (PEST) responsables de su rápida degradación proteolítica. Las ciclinas M se degradan antes de la entrada en mitosis, debido al reconocimiento de una secuencia localizada en el lado amino de la caja ciclina, llamada caja de destrucción. Todas las ciclinas se degradan selectivamente en los proteasomas (*ver Capítulo 1.6*).

La maquinaria fundamental de la regulación reside en la actividad de las **CDK**. Las CDK presentan actividad enzimática de proteína kinasa y fosforilan, por tanto, a otras proteínas con el ATP como donador de fosfato. Reconocen una gran diversidad de sustratos, incluyendo, entre ellos, diferentes proteínas reguladoras y factores de transcripción. Cuando las CDK son activas y fosforilan a sus sustratos, se producen grandes cambios en el metabolismo de la célula y se desencadenan los procesos celulares que llevan a la proliferación.

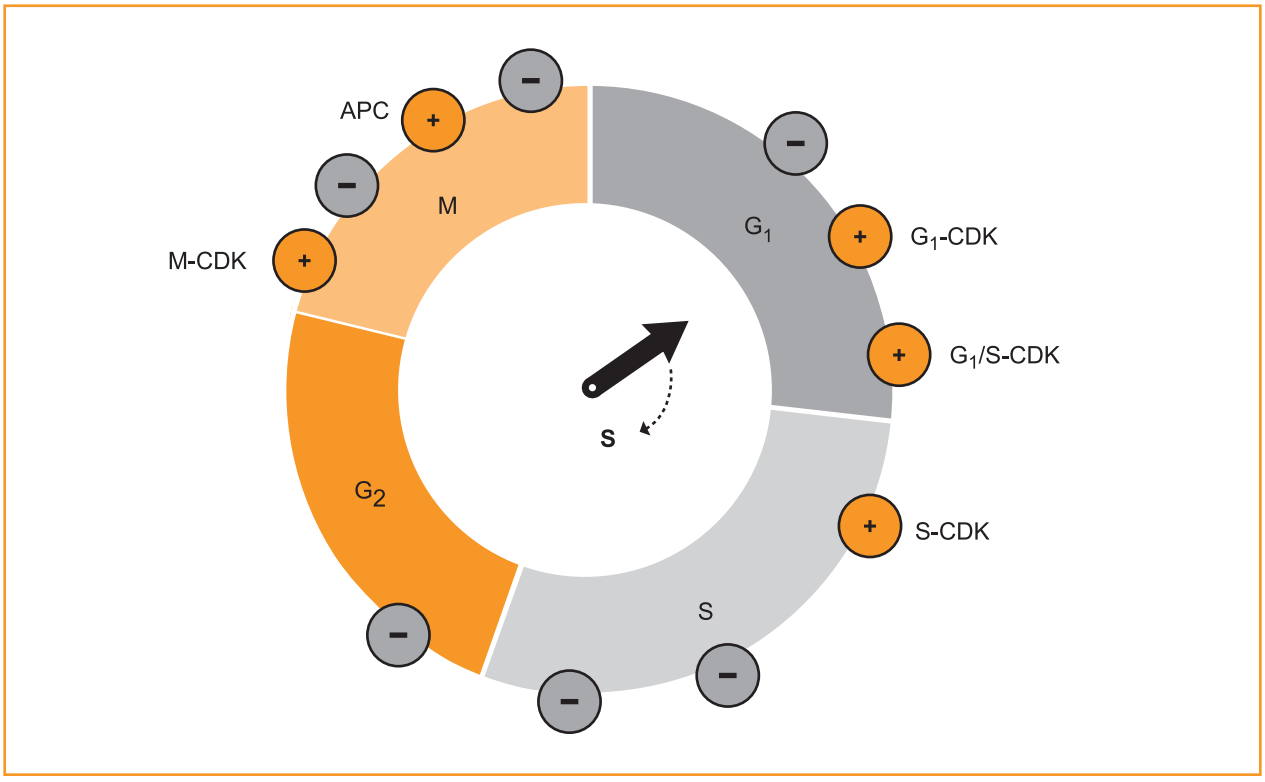


Figura 2. *Puntos de control del ciclo celular. Las principales señales positivas actúan en los tiempos indicados y fuerzan al ciclo a progresar a las etapas siguientes. Están constituidas fundamentalmente por proteína kinasas unidas a su ciclina correspondiente, formando los complejos G_1-CDK, G_1/S-CDK, S-CDK y M-CDK. El complejo promotor de la anafase (APC) constituye otra señal positiva. Existen muchos controles negativos, llamados* checkpoints*, que pueden actuar en distintos momentos del ciclo celular, bloqueando su progresión hasta que no se haya completado fielmente algún proceso celular.*

Estas proteínas aisladas son inactivas, ya que en su conformación se establece un bucle que bloquea el centro activo, en concreto el centro de unión al ATP. Únicamente pueden ser activas cuando están asociadas a una proteína ciclina específica **(Figura 3)**. El cambio conformacional inducido por la unión de la ciclina desbloquea parcialmente el centro activo y la CDK gana actividad, pero sólo es plenamente activa si es fosforilada en un grupo hidroxilo específico cercano al centro activo. En el caso más estudiado de la CDK1 de levaduras, este resto hidroxilo es la treonina 161, que es fosforilada por la proteína kinasa activadora de CDK (CAK), rindiendo un complejo CDK-ciclina totalmente activo. La activación es revertida si el fosfato incorporado es hidrolizado por una proteína fosfatasa. Por supuesto, la disociación de la ciclina acompañante supone volver al estado inactivo.

No obstante, la regulación de las CDK es mucho más compleja. El complejo CDK1-ciclina fosforilado en la treonina 161 se inactiva completamente por la fosforilación de la treonina 14 y de la tirosina 15, catalizadas por la proteína kinasa Wee1. Los fosfatos incorporados a estos dos restos hidroxilo, muy cercanos al centro activo, lo bloquean por completo. Estos grupos fosfatos pueden ser eliminados por hidrólisis específica catalizada por la proteína fosfatasa Cdc25.

Los complejos CDK-ciclina también pueden inhibirse por interacción con las proteínas inhibidoras de CDK **(CDKI)**, de las que se han descrito al menos siete en células de mamíferos, siendo la proteína p27 una de las mejor estudiadas. El bloqueo de la actividad causado por la asociación con estas proteínas inhibidoras revierte cuando las CDKI son eliminadas por proteólisis. Esto ocurre en determinados momentos del ciclo cuando estas proteínas son fosforiladas y marcadas para su degradación en el proteasoma *(ver más adelante)*.

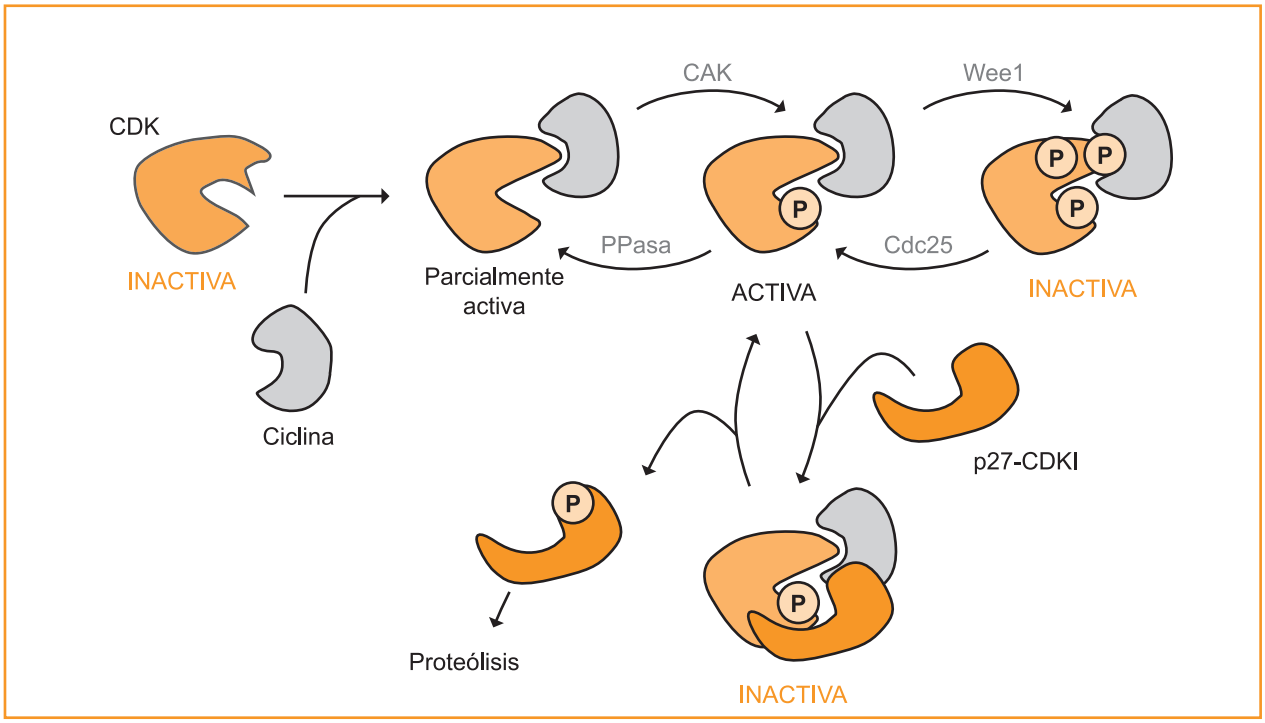


Figura 3. *Mecanismos de regulación de las proteína kinasas dependientes de ciclina (CDK). Se nombran las enzimas que participan en la regulación de la CDK1 de levadura.*

Así, la progresión en el ciclo celular está mediada por ondas de actividad CDK. Se requiere gran actividad de las CDK en las fases S y M y baja o nula en los periodos G_1 y G_2. Estos cambios de actividad cíclica se consiguen primariamente controlando la síntesis y la degradación de las ciclinas **(Figura 4)**, mientras que el control fino se produce mediante reacciones de fosforilación y desfosforilación de restos específicos. En la **Figura 5** se muestra una gráfica hipotética en la que se representan las concentraciones de ciclinas y CDK a lo largo del ciclo. Se pueden observar los picos de concentración de ciclinas y la constancia de la concentración de CDK. Cuando las ciclinas se acumulan van interaccionando con las CDK correspondientes, pero estos complejos permanecerán inactivos, bien por fosforilación en el centro activo de la CDK o por la asociación de proteínas inhibidoras. En el momento preciso, la desfosforilación de los restos próximos al centro activo o la degradación de las proteínas inhibidoras disparará un pico de actividad CDK y la progresión consecuente en el ciclo. Los picos de actividad CDK se anularán por la degradación específica de las ciclinas.

Puede deducirse de lo descrito que una de las claves fundamentales en el control del ciclo celular es la rápida degradación proteolítica de algunas proteínas reguladoras en momentos concretos. Entre ellas están las ciclinas y las CDKI. La degradación proteolítica de estas proteínas ocurre fundamentalmente en el **proteasoma** por mecanismos dependientes de ubiquitina (*ver Capítulo 1.6*). La ubiquitina es una proteína ubicua, que se caracteriza por poseer una estructura globular compacta, rígida y estable, de la que sobresale el extremo carboxilo terminal. Un sistema enzimático específico reconoce a las proteínas que deben ser degradadas y las marca por incorporación de varias moléculas de ubiquitina que forman colas de poliubiquitina. Las proteínas poliubiquitinadas son dirigidas a los proteasomas y rápidamente degradadas por proteólisis.

La especificidad del mecanismo para la degradación selectiva de las proteínas dependiente de ubiquitina se fundamenta en la actividad de la enzima E_3 del sistema. Esta enzima, llamada ubiquitina-proteína ligasa, es la que reconoce y por tanto selecciona las proteínas que tienen que ser degradadas

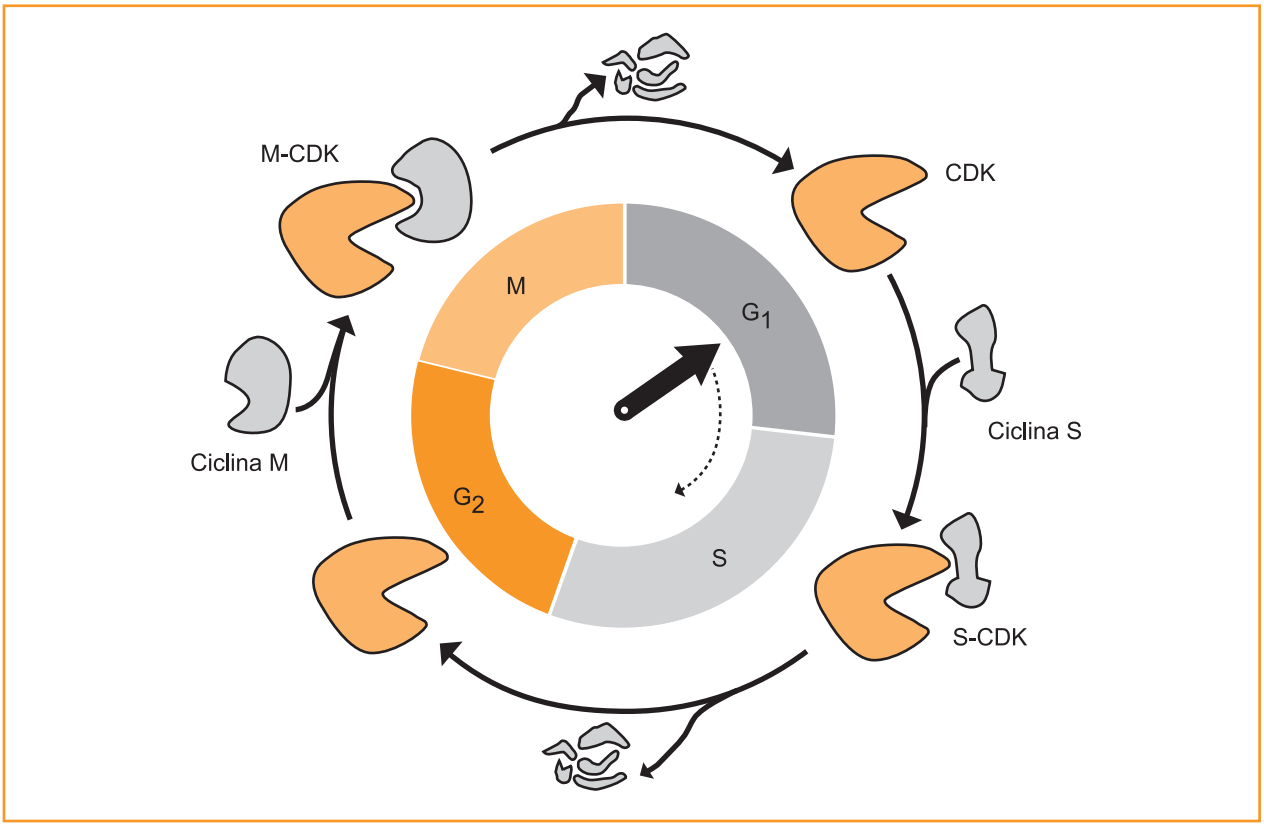


Figura 4. *Síntesis y degradación cíclica de las ciclinas. Por simplicidad sólo se han representado las ciclinas S y las ciclinas M que forman los complejos S-CDK y M-CDK. Estos complejos, una vez formados, sólo serán activos cuando las kinasas dependientes de ciclina (CDK) tengan el grado adecuado de fosforilación y no estén presentes proteínas inhibidoras (CDKI).*

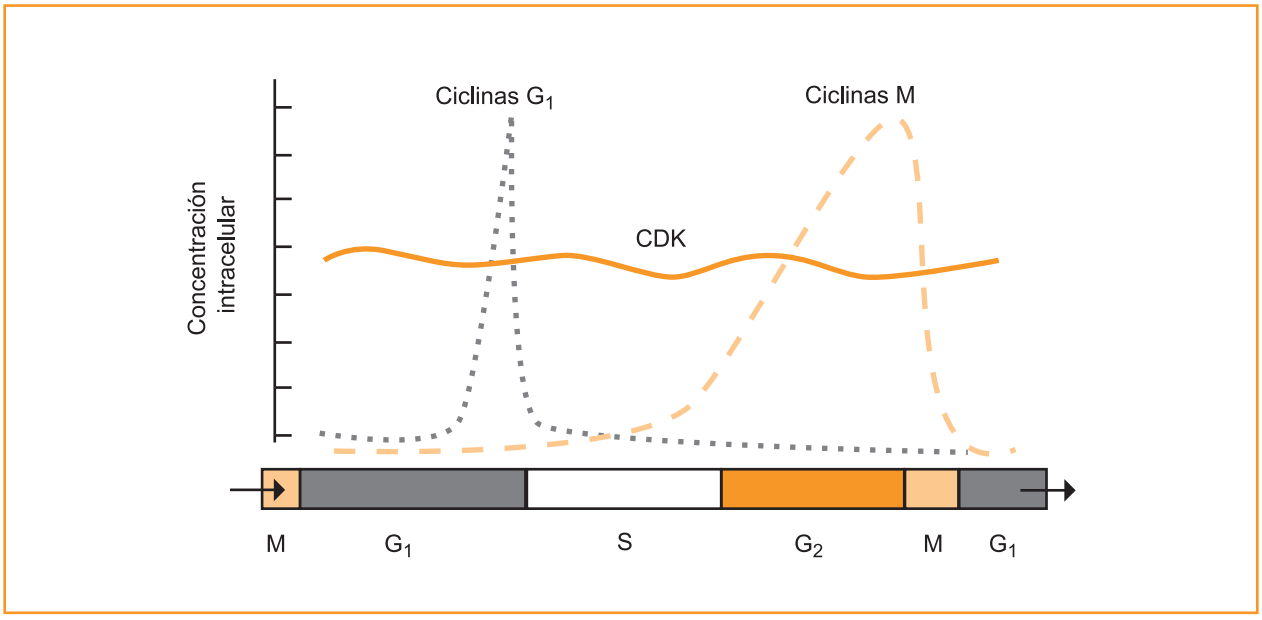


Figura 5. *Concentración intracelular de ciclinas G_1, M y CDK a lo largo del ciclo celular. Obsérvese cómo las ciclinas G_1 se sintetizan de forma mucho más abrupta que las ciclinas M.*

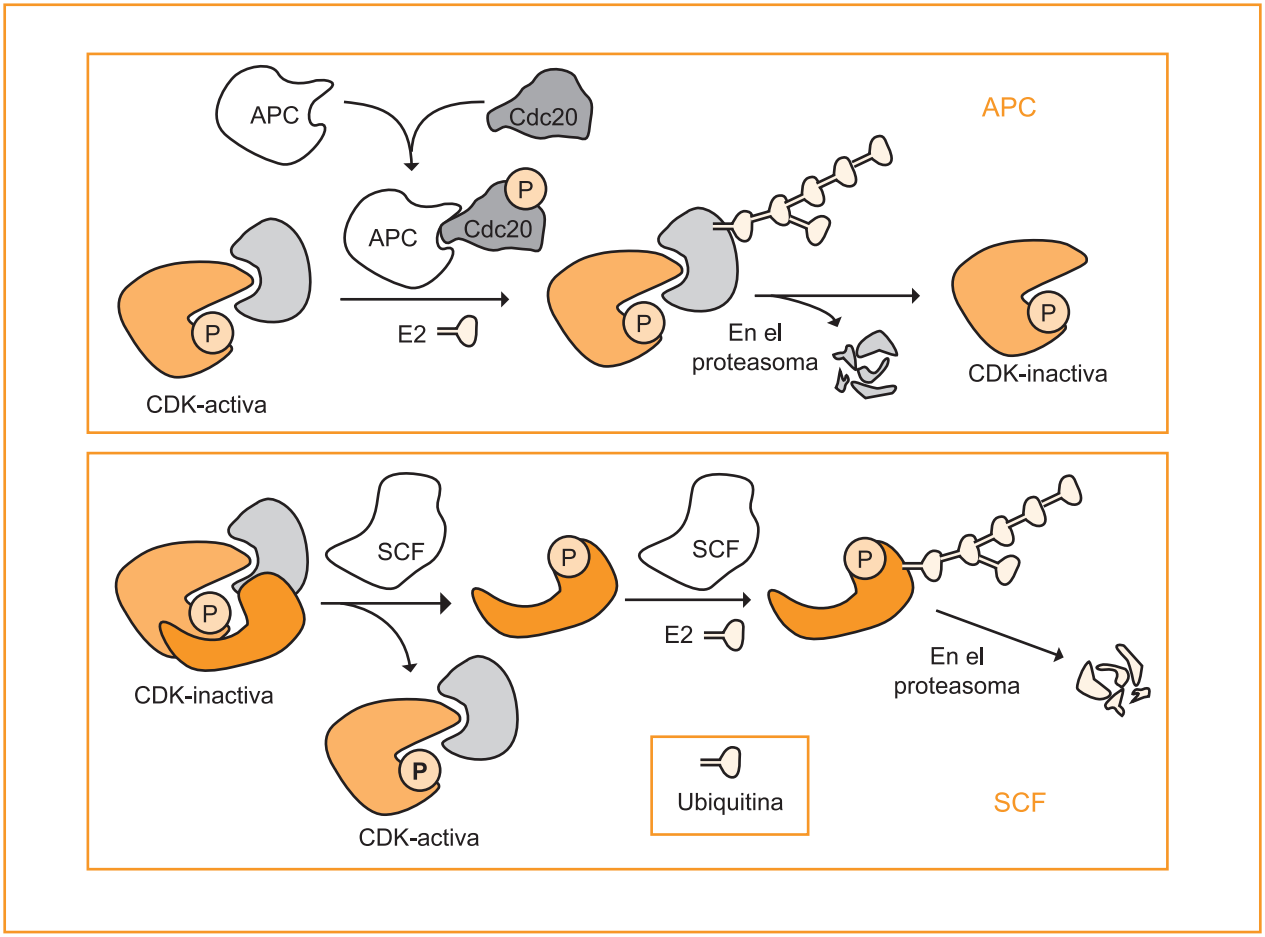


Figura 6. *Complejos ubiquitina-proteína ligasa importantes en el control del ciclo celular. En el panel superior se muestra el complejo APC, que es inactivo, salvo que se asocie a la proteína Cdc20. Su actividad promueve el marcaje con ubiquitina de las ciclinas y su posterior degradación proteolítica, resultando en la inactivación de la CDK. El panel inferior muestra el papel del complejo SCF, que produce la fosforilación de la proteína inhibidora p27, su marcaje con ubiquitina y su degradación, induciendo la actividad CDK. APC: complejo promotor de la anafase; CDK: kinasa dependiente de ciclinas; SCF: complejo proteico formado por Skp-1, Cul-1 y F-box.*

y les transfiere la ubiquitina activada que transporta la enzima E_2 (enzima transportadora de ubiquitina). El papel de las proteínas E_3 parece ser que radica en colocar sus sustratos de forma que queden los restos de lisina, donde se debe producir la ubiquitinación, muy próximos a la enzima-2 del sistema.

Durante el ciclo celular actúan dos sistemas enzimáticos con actividad ubiquitina-proteína ligasa, el sistema **APC** (***A**naphase **P**romoting **C**omplex*) y el sistema **SCF** (llamado así por sus tres componentes proteicos esenciales **S**kp-1, **C**ul-1, y **F**-*box protein*). Estos sistemas son los que reconocen a las proteínas del ciclo que deben ser degradadas en cada momento determinado, y las marcan con ubiquitina destinándolas a los proteasomas, donde son hidrolizadas **(Figura 6)**. Obsérvese que la activación del complejo APC por unión a la proteína Cdc20 promueve la degradación de la ciclina y, por tanto, la inactivación de la CDK. Por el contrario, el complejo SCF, al inducir la degradación de una proteína inhibidora como la p27, ocasiona la activación del complejo CDK-ciclina.

A continuación, se describirán los principales puntos de control del ciclo que funcionan por señales positivas, forzando a la célula a cumplir una determinada etapa, y los principales controles negativos que bloquean el ciclo hasta que la etapa correspondiente haya finalizado adecuadamente.

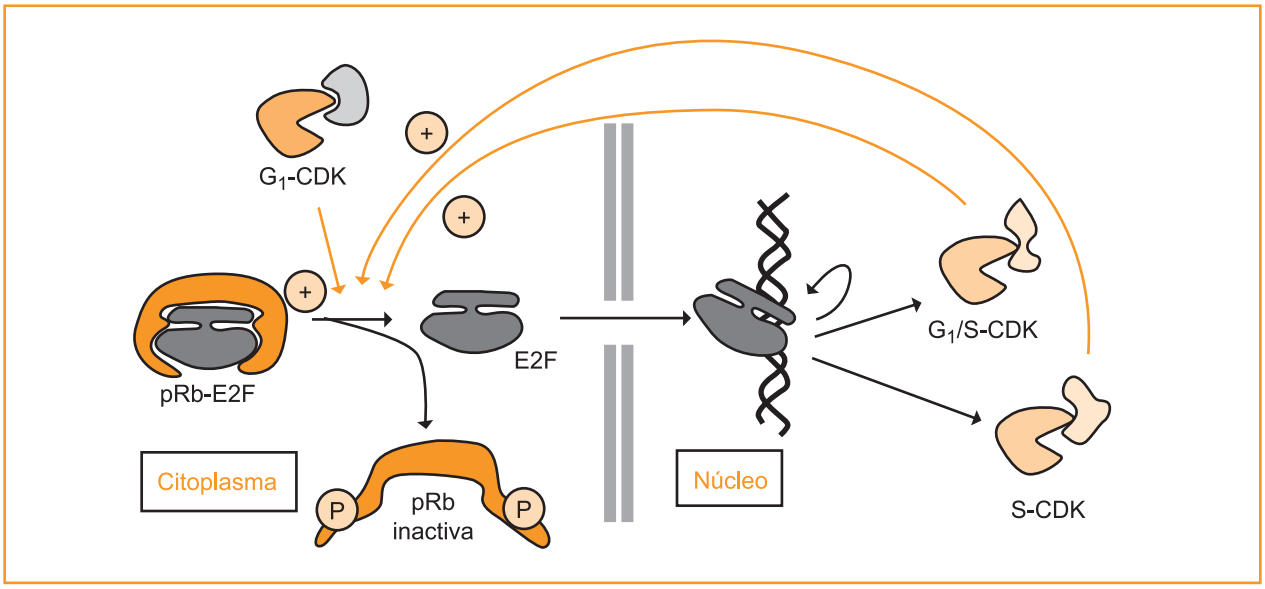


Figura 7. *Activación del factor de transcripción E2F por fosforilación de la proteína del retinoblastoma (pRB). CDK: kinasa dependiente de ciclina.*

2.2.2. Controles positivos sobre el ciclo celular

Los principales controles que fuerzan a las células a progresar por las distintas etapas del ciclo celular tienen lugar en la fase G_1 y en la fase G_2, es decir, en la preparación para la replicación del DNA y para la mitosis, una vez que la célula ha alcanzado las condiciones óptimas para realizarlas. Están basados en la activación de las diferentes CDK en el momento oportuno y la inducción consecuente de cascadas de fosforilación específica de proteínas. Durante la mitosis está también bien documentada la existencia del complejo promotor de la anafase (APC), que permite la finalización de la mitosis, principalmente por inducción de proteólisis específica. Las células que acaban de finalizar una ronda de división normalmente crecen en tamaño y se preparan para iniciar nuevamente una ronda de replicación, salvo que entren en fase G_0.

2.2.2.1. Inicio de la fase S

Para que una célula en fase G_1 entre en fase S e inicie la replicación del DNA, deben acumularse las ciclinas específicas (ciclinas G_1). En células animales la acumulación es inducida por señales extracelulares, como los factores de crecimiento. Cuando la célula traspasa el punto de no retorno (*start* o "punto de restricción") está destinada a proliferar y deja de responder a señales externas. Este punto está marcado por la activación de las CDK de la fase G_1 (G_1-CDK). En los procesos celulares que se desencadenan a partir de este momento participan otras muchas proteínas. Entre las mismas, cabe destacar el factor de transcripción E2F y la proteína del retinoblastoma Rb **(Figura 7)**.

La proteína Rb mantiene secuestrado en el citoplasma el factor de transcripción E2F por interacción específica proteína-proteína. Cuando se activa el complejo G_1-CDK, fosforila la proteína del retinoblastoma, induciendo en ella un cambio conformacional que disminuye su afinidad por E2F. El factor de transcripción liberado migra al núcleo, donde induce la expresión de numerosos genes necesarios para la replicación del DNA. Entre ellos está su propio gen, de manera que, al autoinducirse, se produce un incremento en su concentración y un bucle de activación y potenciamiento del efecto. E2F induce la expresión de los genes de otras ciclinas, como la ciclina E, que forma el complejo G_1/S-CDK, y la ciclina A, que forma el complejo S-CDK. La proteína RB también es sustrato de estos complejos ciclina-CDK, lo que refuerza el bucle de retroalimentación. Además, estos dos complejos fosforilan las CDKI, como la p27, produciendo su inactivación o un primer marcaje que las dirige a su degradación proteolítica.

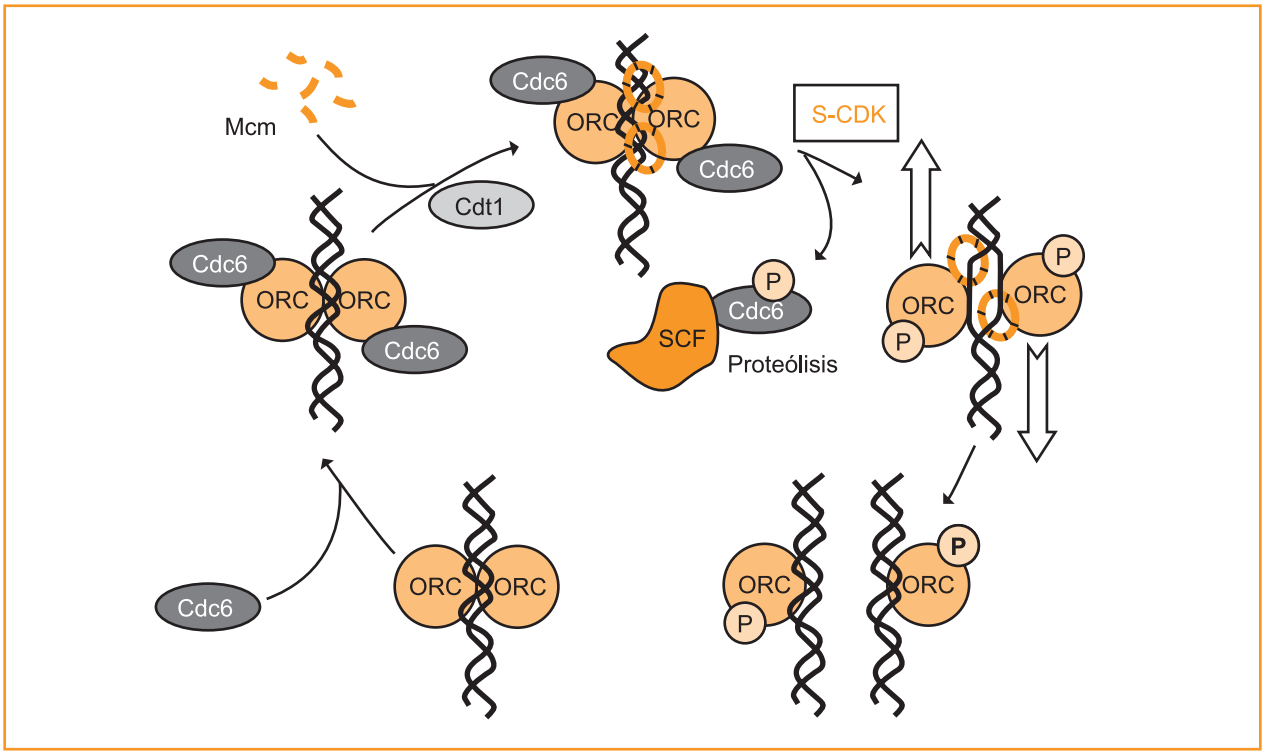


Figura 8. *Papel del complejo S-CDK en el inicio de la replicación. CDK: kinasa dependiente de ciclina; Mcm: proteínas de mantenimiento de los minicromosomas; ORC: complejo de reconocimiento del origen.*

El resultado de este mecanismo es la activación brusca de las CDK de la fase G_1 que fuerza a la célula a iniciar la replicación del DNA, ya que se han sintetizado las proteínas necesarias. Además, las CDK activas eliminan las restricciones para la replicación. En este sentido vale la pena destacar el papel del complejo S-CDK en el inicio de la replicación en los diferentes replicones de una célula eucariota **(Figura 8)**.

Los replicones eucariotas son reconocidos por complejos proteicos llamados **ORC** (***O**rigin **R**ecognition **C**omplex*, complejo de reconocimiento del origen de replicación) que interaccionan con el DNA en las secuencias de inicio de la replicación. Para que comience el proceso es necesaria la entrada de las proteínas **Mcm** (***M**inic**m**aintenance proteins*, proteínas de mantenimiento de los minicromosomas) al complejo, formando hexámeros que rodean las hebras de DNA. Para que las proteínas Mcm se incorporen al complejo prerreplicativo, se requiere la unión previa a los ORC de una proteína llamada Cdc6 y el factor de inicio de la replicación Cdt1. Las proteínas Mcm constituyen una familia de proteínas con un dominio ATPasa dependiente de su unión a DNA, que presentan actividad helicasa y que, según sugieren estudios *in vivo*, son responsables del movimiento de las horquillas de replicación. Tanto los complejos ORC como Cdc6 y las Mcm son sustratos del complejo S-CDK activo. Cuando ORC y Cdc6 son fosforiladas, se induce la formación del complejo replicativo activo eliminándose del mismo la proteína Cdc6. La fosforilación de Cdc6 supone un marcaje para su reconocimiento por el complejo SCF y consecuentemente para su proteólisis dependiente de ubiquitina.

Las proteínas Mcm avanzan por delante de cada horquilla gracias a su actividad helicasa, hasta que se finaliza la replicación en cada uno de los replicones. Los orígenes de replicación quedan marcados con los complejos ORC fosforilados impidiéndose de esta forma que se inicien nuevas rondas de replicación antes de que finalice la mitosis y, por tanto, la poliploidía.

Debido a su incidencia fundamental en el transcurso del ciclo celular, el control que impide el inicio de nuevas rondas de replicación es muy estricto y para llevarlo a cabo se superponen varios mecanismos. Por una parte, toda proteína Cdc6 que no esté unida a un origen de replicación es fosforilada y de-

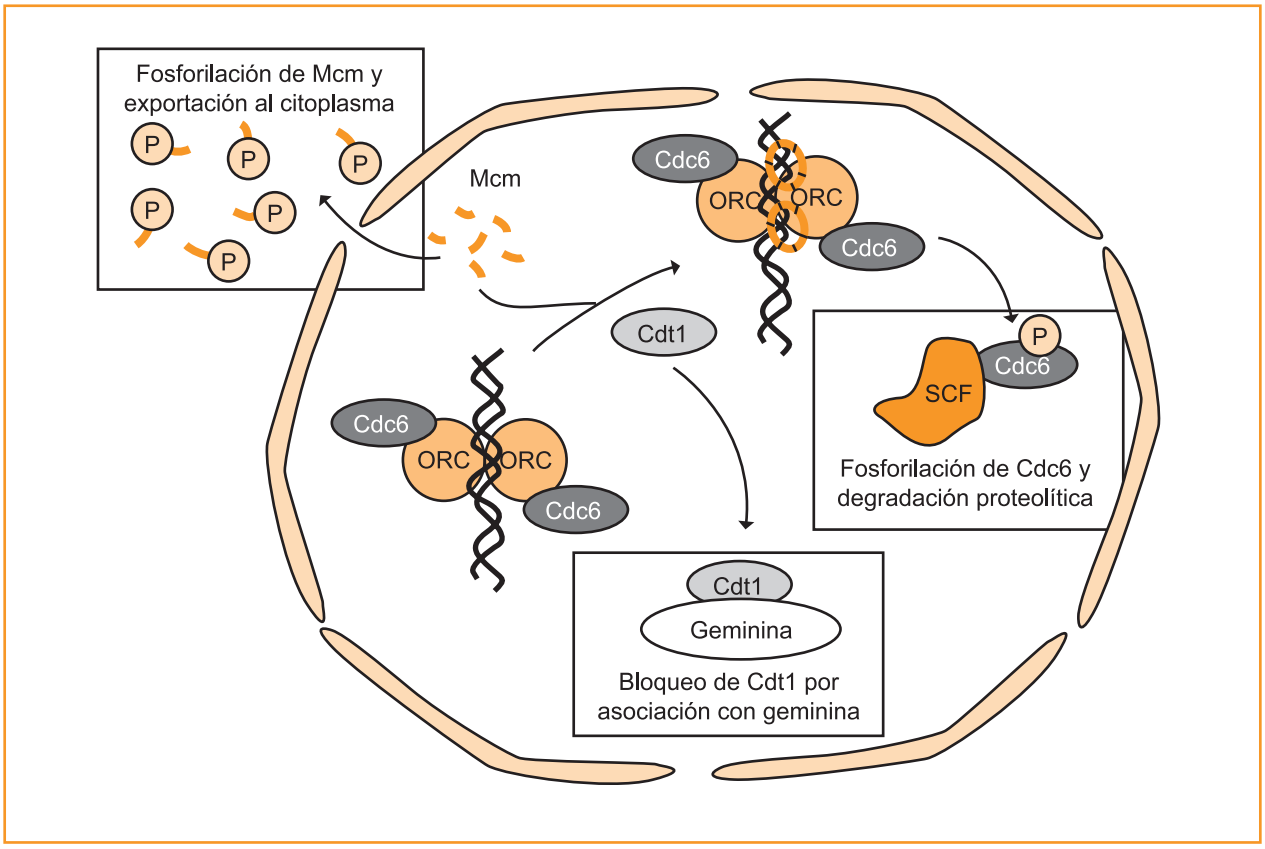


Figura 9. *Bloqueo de nuevas rondas de replicación antes de la finalización de la mitosis por varios mecanismos. Mcm: proteínas de mantenimiento de los minicromosomas; ORC: complejo de reconocimiento del origen.*

gradada. Además, todas las moléculas de proteínas Mcm no unidas al DNA son también fosforiladas, lo que fuerza su transporte al citoplasma, eliminándose por tanto la posibilidad de que se formen nuevos complejos prerreplicativos. Recientemente, se ha descubierto otro mecanismo llevado a cabo por la geminina. Esta proteína bloquea la entrada de la helicasa Mcm a los orígenes de replicación, al interaccionar con el factor de inicio Cdt1. La proteína Cdt1 está presente en el núcleo durante la fase G_1 y el comienzo de la fase S, pero la geminina está presente en las fases S y G_2. De esta forma, cuando se acoplan los complejos prerreplicativos en G_1 no hay problema en la unión de Mcm a los mismos, pero cuando se inicia la fase S y la geminina es sintetizada, bloquea la actividad posterior de cualquier molécula de Mcm todavía presente en el núcleo **(Figura 9)**.

El control de esta etapa del ciclo es un ejemplo de la multiplicidad de mecanismos reguladores que se producen en su desarrollo e ilustra claramente la trascendencia fundamental que tiene para los seres vivos que exista una adecuada transmisión genética a la descendencia y se asegure la viabilidad de las células tras la división.

2.2.2.2. Entrada en mitosis

Otro mecanismo fundamental en el ciclo celular que opera por controles positivos es el que promueve la entrada en la fase M. Las ciclinas M, requeridas para la mitosis, a diferencia de las ciclinas G_1, que se sintetizan bruscamente, son sintetizadas durante un periodo de tiempo más largo que permite la formación paulatina de muchos complejos M-CDK. Sin embargo, estos complejos deben permanecer inactivos hasta que la célula esté preparada para la mitosis. La inactivación se consigue mediante su fosforilación simultánea por la proteína kinasa activadora de CDK y por la proteína kinasa Wee1 que bloquea el centro activo, tal como se ha explicado previamente **(Figura 3)**.

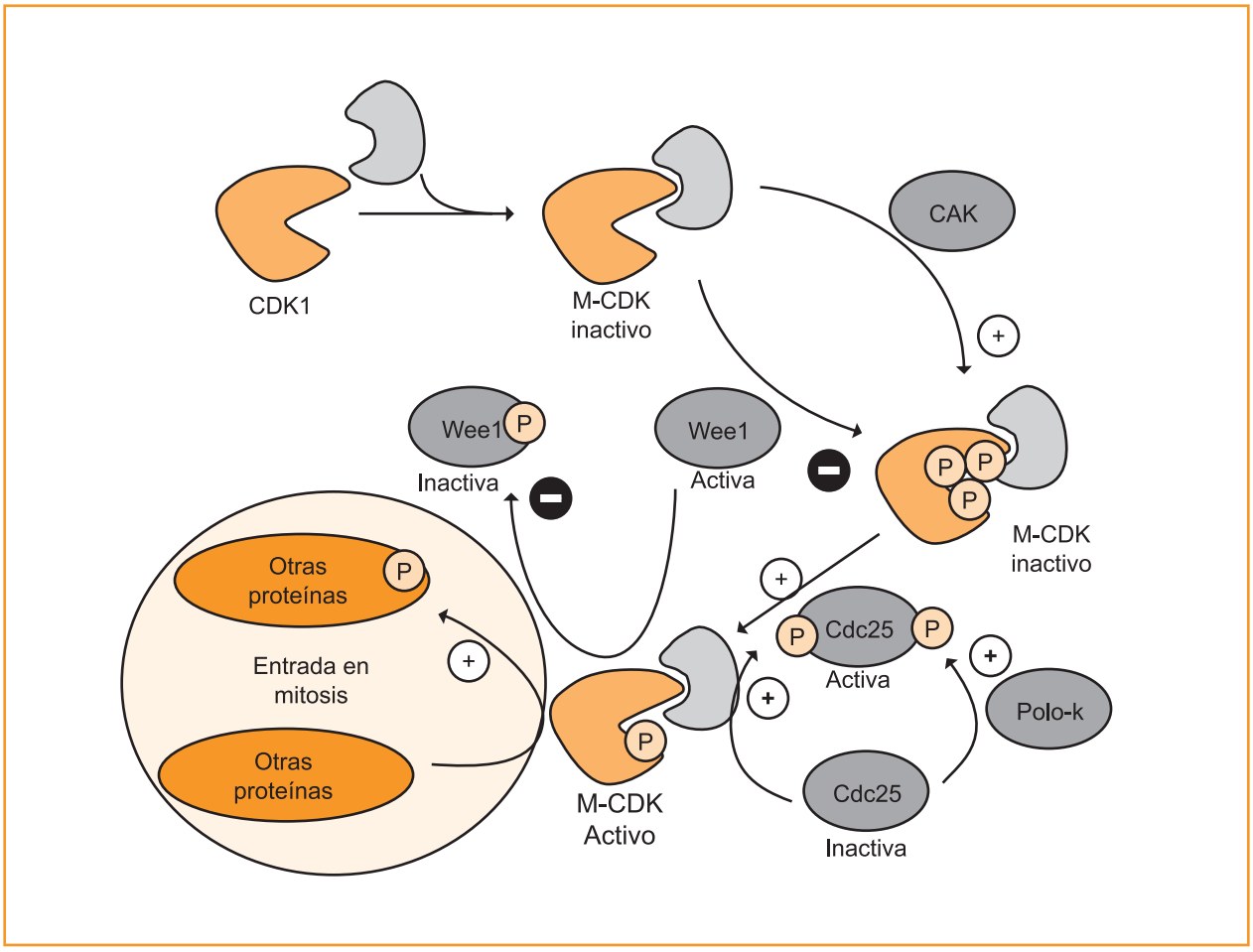


Figura 10. *Activación del complejo M-CDK para la entrada en mitosis. CDK: kinasa dependiente de ciclina.*

La activación de M-CDK se produce de forma abrupta mediante la activación de la proteína fosfatasa Cdc25, que cataliza la rápida hidrólisis de los enlaces fosfato bloqueantes introducidos por Wee1 **(Figura 10)**. La proteína Cdc25 se activa parcialmente en este momento del ciclo por su fosforilación en varios grupos específicos catalizada por una nueva proteína kinasa, la polo-kinasa, que aparece en escena.

La rapidez de la activación de los complejos CDK se consigue también por un bucle de regulación por retroalimentación positiva porque entre los sustratos de M-CDK están la propia Cdc25, y la kinasa Wee1. El mecanismo consiste en que cuando la Cdc25 (activadora de M-CDK) es fosforilada por los complejos M-CDK activos en grupos distintos a los fosforilados por la polo-kinasa, adquiere su máxima actividad. Por otra parte, la fosforilación de la kinasa Wee1 (inhibidora de M-CDK) la inactiva completamente.

El complejo M-CDK tiene otros múltiples sustratos que al fosforilarse llevan a cabo la gran variedad de procesos que desencadenan la mitosis. Se organizan los microtúbulos que forman el huso mitótico y se unen a él todos los cromosomas al tiempo que se reestructuran, acortándose al máximo mediante la fosforilación de la condensina.

Además, se desintegra la membrana nuclear, se reestructura el citoesqueleto y se reorganizan el aparato de Golgi y el retículo endoplásmico al desaparecer la membrana del núcleo.

Los cromosomas totalmente condensados se alinean en el ecuador del huso mitótico, con cada una de las cromátidas hermanas unidas por el cinetocoro a microtúbulos orientados a los diferentes polos del huso mitótico, alcanzándose el estadio de metafase.

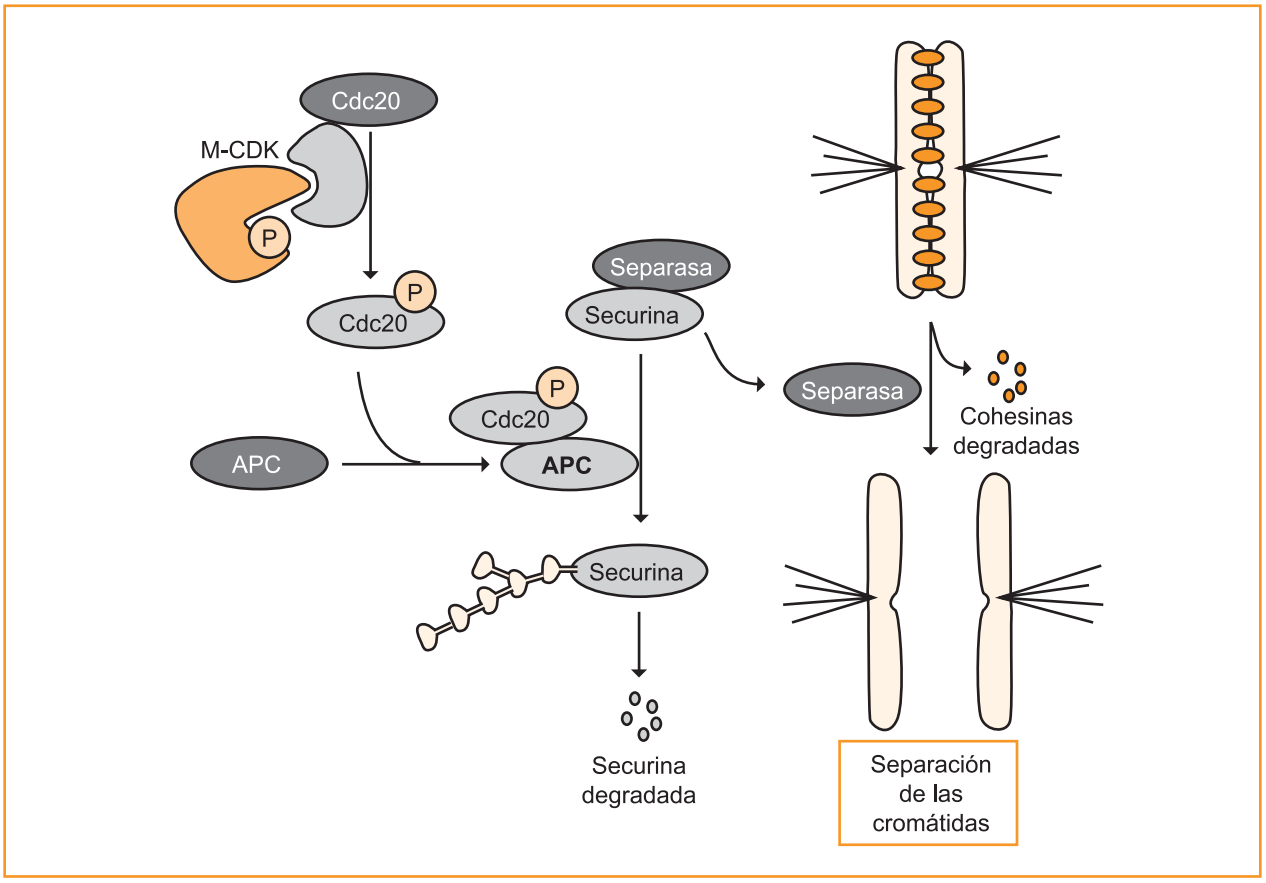


Figura 11. *Papel del complejo M-CDK en el proceso de separación de las cromátidas en el anafase. CDK: kinasa dependiente de ciclina.*

2.2.2.3. Entrada en anafase

La unión de cada cromátida hermana a los polos opuestos del huso mitótico crea fuerzas que tratan de separarlas. Sin embargo, la separación prematura se evita por la fuerte unión entre las cromátidas hermanas a través de los centrómeros y, sobre todo, a lo largo de los brazos mediante las cohesinas, proteínas que se unieron al DNA a medida que se replicaba durante la fase S. La existencia de estas uniones da tiempo a la célula a que todos los cromosomas se alineen correctamente en la placa metafásica antes de que las cromátidas sean separadas. Puede deducirse, por tanto, que la degradación de las cohesinas es esencial para que se pueda progresar en la mitosis.

El complejo promotor de la anafase (APC) desempeña un papel clave en este momento. La proteína Cdc20 sintetizada previamente a la mitosis es fosforilada ahora por proteína kinasas todavía no conocidas, pero que se sabe que requieren la actividad del complejo M-CDK. Esta fosforilación favorece que se una al complejo APC y que lo active **(Figura 11)**. Uno de los sustratos de APC es el complejo securina-separasa. La separasa es una proteasa cuyo sustrato es la cohesina, pero permanece inactiva mientras que esté bloqueada por su interacción con la securina. El mecanismo desencadenante consiste en que el complejo APC marca a la securina con ubiquitina para su degradación específica en el proteasoma. La degradación de la securina libera y activa a la separasa que a su vez degrada proteolíticamente a la cohesina que mantenía unidas a las dos cromátidas hermanas de cada cromosoma.

2.2.2.4. Citocinesis

Los sucesos celulares más importantes que caracterizan la citocinesis son la formación de las membranas nucleares y la división del citoplasma. Este último proceso se produce por la formación

de un anillo contráctil de actina-miosina que va cerrando la membrana plasmática hasta dividir la célula binucleada en dos células hijas.

La salida de mitosis requiere la inactivación de los complejos M-CDK y la desfosforilación de sus sustratos. La pérdida de actividad de M-CDK se consigue por degradación proteolítica de las ciclinas M inducida por el marcaje con ubiquitina a cargo del complejo APC. La posible activación de diversas proteína fosfatasas completa la desfosforilación de todas las proteínas que habían participado en el proceso de mitosis, facilitando la reorganización de las dos células hijas.

La entrada de las células hijas en fase G_1 debe mantener baja la actividad CDK para dar tiempo a que éstas se preparen para una nueva fase S. Esto se consigue mediante varios mecanismos:

• La activación de APC por una nueva proteína, la Hct1, lo que garantiza la baja concentración de ciclinas M durante la fase G_1.

• La síntesis de inhibidores de las CDK como la proteína Sic1.

• La disminución de la expresión de los genes de las ciclinas M.

De esta forma, las células están preparadas para crecer e iniciar los mecanismos moleculares, ya descritos, que las llevarán de nuevo a la fase S.

2.2.3. Controles negativos sobre el ciclo celular

Este tipo de controles es conocido en la literatura con la palabra inglesa *checkpoints*, es decir, son puntos de comprobación de que todos los procesos celulares se están produciendo correctamente. En caso contrario, se disparan mecanismos que bloquean la progresión del ciclo celular hasta que se haya completado el proceso en cuestión o los daños celulares hayan sido reparados. Todos estos puntos de control requieren el concurso de una serie de proteínas auxiliares. Algunas están codificadas por protooncogenes y otras por antioncogenes, ya que se ha demostrado que sus mutaciones están asociadas con la aparición de cáncer. Estos mecanismos deben ser estrictos, ya que los fallos en ellos significan la continuación de la división celular a pesar de los daños. Estos controles suponen por tanto una especie de control de calidad del ciclo celular.

2.2.3.1. Tamaño celular y proliferación

En general, las células proliferantes mantienen una constancia en el tamaño que poseen al dividirse, lo que indica que no inician una nueva ronda de replicación hasta que no han adquirido el tamaño adecuado. El crecimiento celular es absolutamente dependiente del aporte de nutrientes, lo que justifica las diferencias en la duración del ciclo celular en función de las condiciones nutricionales.

La relación entre tamaño celular y proliferación se ha estudiado en *Saccharomyces*. Parece ser que las levaduras detectan la cantidad total de una ciclina de la fase G_1, la ciclina Cln3, como señal del tamaño para dividirse. La ciclina Cln3 se sintetiza a un ritmo constante a medida que la célula crece en tamaño, por lo que su concentración no se modifica. Cuando la cantidad total sobrepasa un umbral determinado se activa el complejo G_1-CDK y continúa la progresión en el ciclo celular. El DNA o una proteína que interaccione con él puede ser el sensor de la cantidad de Cln3. A medida que la ciclina se va sintetizando va ligándose al DNA y resulta inhibida. Cuando todos los sitios de unión están ocupados empieza a aparecer ciclina libre y es entonces cuando se activará la CDK. Esta hipótesis explicaría el fenómeno del aumento de tamaño celular que ocurre en todas las especies cuando aumenta la ploidía. Los organismos poliploides son siempre de mayor tamaño que los diploides. Al existir mayor cantidad de DNA en las células hace falta mayor cantidad de la molécula reguladora para iniciar la división, por lo que las células crecen durante más tiempo.

No obstante, debe existir otro tipo de controles que haga que el crecimiento y la proliferación puedan hacerse independientes. Las células animales pueden proliferar en respuesta a señales extracelulares antes de haber alcanzado el tamaño de las células progenitoras. Por el contrario, diversos tipos celulares pueden crecer extraordinariamente sin proliferar, como los huevos de muchos animales, o crecer en tamaño una vez que las células han salido del ciclo y están en estado de diferenciación terminal, como los miocitos y las neuronas.

2.2.3.2. Control de la existencia de fragmentos de Okazaki

Los fragmentos de Okazaki se forman durante la replicación de la hebra retrasada del DNA.

A medida que se van formando se elimina el RNA cebador y el hueco que queda entre dos fragmentos es rellenado por una DNA polimerasa copiando la hebra molde. Finalmente, la melladura resultante es sellada por una DNA ligasa. La existencia de fragmentos de Okazaki en una célula es indicativa de que la replicación no ha finalizado, por lo que el ciclo celular no puede progresar a la fase de mitosis mientras existan estos fragmentos de DNA. Parte del control reside en el reconocimiento de los fragmentos, para lo que existen varias proteínas, entre ellas la familia de proteínas Rad.

2.2.3.3. Controles sobre daños en el DNA

Este tipo de controles puede actuar en cualquier momento del ciclo celular porque los daños en el DNA producidos por radiación o por mutágenos provocan inevitablemente que las hebras queden desapareadas. La progresión del ciclo cuando existen daños en el DNA llevaría inevitablemente a la aparición de mutaciones. Las proteínas Rad están implicadas en la localización de estas secuencias mal apareadas, bloqueando la progresión en el ciclo e induciendo diversos mecanismos correctores.

Uno de los mecanismos más estudiados es el mediado por la proteína p53. La proteína p53, a la que se ha llamado "guardián del genoma", es el producto de un antioncogén. Es una proteína de vida media muy corta que se degrada, por tanto, muy rápidamente después de su síntesis. Esto es debido a que interacciona con otra proteína, la Mdm2, que actúa como ubiquitina ligasa y la marca para su destrucción en los proteasomas. Cuando existen daños en el DNA se activan proteína kinasas cuyo sustrato es la proteína p53. La fosforilación de p53 evita el reconocimiento por Mdm2 y, por tanto, p53 no es degradada y se incrementa rápidamente su concentración.

En la **Figura 12** se indica cómo la p53 bloquea la progresión del ciclo celular en estas circunstancias. Esta proteína es un factor de transcripción que induce la expresión de varios genes, entre ellos, el que codifica una proteína CDKI, la p21, que inhibe la actividad de los complejos G_1-CDK y S-CDK, bloqueando, consecuentemente, la progresión del ciclo celular. La p53 también induce la síntesis de la proteína GADD (***G**rowth **A**rrest on **D**NA **D**amage*, detención del crecimiento por daños en el DNA). La proteína p53, a concentraciones bajas, induce la síntesis de la proteína PCNA (***P**roliferating **C**ell **N**uclear **A**ntigen*, antígeno nuclear de las células en proliferación). Por el contrario, cuando se acumula p53, se bloquea la expresión de PCNA. Esta proteína tiene muchas funciones en la replicación del DNA, en su reparación y en la recombinación. Su interacción con p21, con GADD y con otras proteínas bloquea su actividad en la replicación del DNA, ya que es una subunidad de las DNA polimerasas δ, ε y γ. Sin embargo, no se bloquea su papel en los mecanismos reparadores del DNA. Por este motivo, se bloquea la replicación, dando tiempo a la célula a que ésta y otras proteínas reparadoras puedan corregir los daños detectados en el DNA. Si se consigue la reparación, el ciclo continúa, porque disminuye la concentración de la proteína kinasa de p53, lo que significa la degradación de ésta y el retorno a las condiciones iniciales.

En el caso de que no se consiga reparar el DNA porque fallen los sistemas reparadores o porque el daño sea muy grande, el destino de la célula varía en función del tipo de organismo. En levaduras unicelulares se vuelve al ciclo y continúa la proliferación, incluso aunque esto suponga la aparición de mutaciones. Sin embargo, en organismos pluricelulares una célula mutada puede suponer un grave perjuicio para la integridad del organismo, por lo que la proteína p53 dirige a la célula hacia la muerte celular programada (*ver más adelante*).

2.2.3.4. Controles sobre el huso mitótico

Mediante estos controles se detectan alteraciones en las fibras del huso mitótico que se unen a los cinetocoros y se detiene el ciclo en metafase. Más adelante, también pueden detectarse alineamientos erróneos de los cromosomas y se detiene la citocinesis. Si los daños son irreparables, las proteínas implicadas en estos controles inducen apoptosis. El control más estudiado sobre esta etapa es el que implica a la proteína Mad (***M**itotic **a**rrest **d**eficient*). Esta proteína reconoce a los cinetocoros y se une a ellos hasta que es reemplazada por los microtúbulos que constituyen el huso mitótico. La proteína Mad permanece activa y bloquea la entrada en anafase hasta que todos los cinetocoros se hayan anclado correctamente al huso. Una proteína llamada kinesina participa en la unión de las fibras de tubulina al cinetocoro

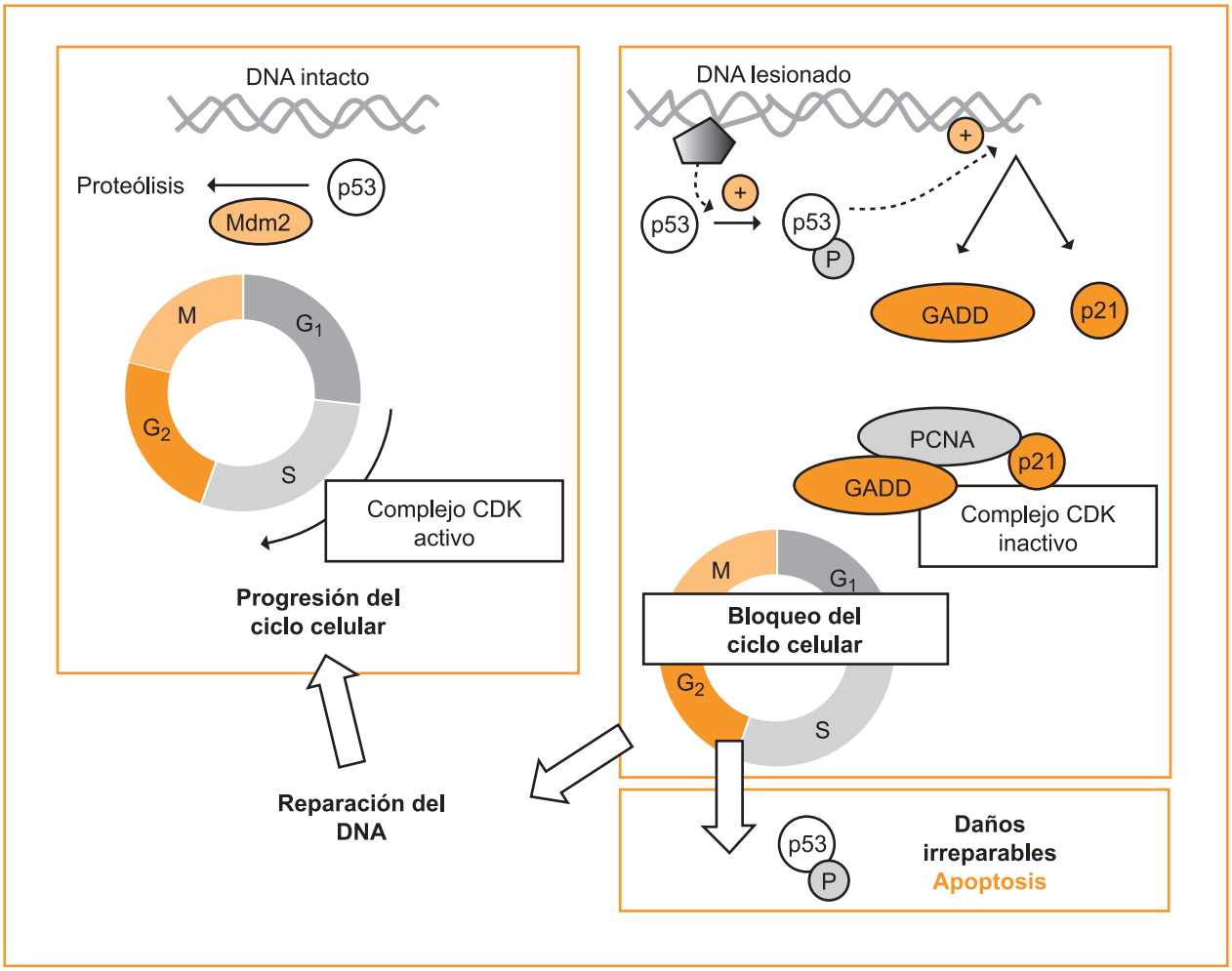


Figura 12. *Papel de la proteína p53 bloqueando el ciclo celular cuando hay daños en el DNA. GADD: proteína de detención del crecimiento por daños en el DNA; PCNA: antígeno nuclear de las células en proliferación.*

y parece que también está implicada en el control de la entrada en anafase.

2.3. Variantes del ciclo celular eucariota

El ciclo celular descrito es el normal en todas las células eucariotas, aunque existan diferencias en la duración de las distintas fases, dependiendo del tipo de organismo o de célula. Sin embargo, el ciclo celular ha evolucionado para permitir variantes específicas que cumplen funciones muy determinadas en algunos tipos celulares. Las principales variantes del ciclo celular se describen brevemente a continuación.

2.3.1. Endorreplicación

La endorreplicación consiste en la replicación del DNA durante la fase S sin que exista mitosis o citocinesis. Al no producirse la mitosis, las células duplican su número de cromosomas, a partir de lo cual, o bien pueden mantener su individualidad, en cuyo caso se produce poliploidía, o pueden quedar alineados en el núcleo, produciéndose politenia. La poliploidía es un fenómeno que, siendo común en plantas, en animales se produce sólo en algunos tejidos y células especializadas, como los hepatocitos, los trofoblastos en la placenta y los megacariocitos, precursores de las plaquetas. Los cromosomas politénicos se originan en las glándulas gigantes de algunas moscas como la *Drosophila melanogaster.*

Los cromosomas sufren 10 rondas de replicación y se agrupan perfectamente alineados constituyendo gruesos filamentos con 2.048 cadenas idénticas de DNA. La politenia es un ejemplo de amplificación génica. Cuando se producen la replicación y la mitosis pero no hay citocinesis se forman células polinucleadas, como ocurre en las células del músculo esquelético.

2.3.2. Meiosis

La meiosis es un proceso celular necesario para mantener la correcta ploidía en las especies de reproducción sexual. En la formación del cigoto se funden dos núcleos que provienen de cada gameto, duplicándose por tanto el número de cromosomas que portaban los gametos. Para que el cigoto contenga la dotación cromosómica de las células somáticas, los gametos deben previamente tener reducido su contenido cromosómico a la mitad. Para ello, en la proliferación de las células embrionarias, cuando llega el momento en que éstas se diferencian definitivamente a gametos, se producen dos divisiones celulares especiales llamadas meiosis I y meiosis II.

El ciclo celular de la meiosis I es especial en la fase M. La profase es una etapa mucho más larga que en las divisiones normales para que las parejas de cromosomas homólogos se alineen y se produzca recombinación entre ellas para incrementar la variabilidad génica. Como la célula ya había pasado por la fase S, tiene una dotación cromosómica 4n. Tras la finalización de la meiosis I resultan dos células con 2n cromosomas. Estas nuevas células entran en la fase G_1 del siguiente ciclo celular o meiosis II. Éste es también especial, ya que el ciclo carece de fase S pero la mitosis es normal. Por tanto, cuando ambos ciclos finalizan resultan cuatro células con n cromosomas cada una.

2.3.3. Ciclo celular en Saccharomyces

La levadura gemante *Saccharomyces cerevisiae* se divide mediante un ciclo celular atípico ya que carece de fase G_2. La célula ovalada se divide, formando una yema que empieza a aparecer en la fase G_1 y crece continuamente hasta que se separa de la célula madre al final de la mitosis. La formación de la yema requiere la organización temprana de un huso de microtúbulos, lo que desencadena el inicio de la mitosis. Por ello, el final de la fase S y el comienzo de la fase M se solapan en el tiempo, quedando suprimida la fase G_2.

2.3.4. Ciclos de segmentación

Los ciclos de segmentación son específicos de las primeras divisiones celulares que siguen a la fecundación de los huevos hasta la formación del embrión temprano. Estos ciclos se han estudiado en diversas especies como la rana común, *Xenopus laevis*, y la mosca del vinagre, *Drosophila melanogaster*. Se caracterizan por la rápida alternancia de las fases S y M, resultando en periodos G_1 y G_2 prácticamente imperceptibles. Estos ciclos se pueden producir debido a la gran acumulación de compuestos de reserva y de las proteínas necesarias existentes en el huevo, lo que hace innecesaria la síntesis de nuevas proteínas para cada división. En *Drosophila*, tampoco ocurre la citocinesis durante estas primeras divisiones embrionarias, por lo que se produce una única célula polinucleada o sincitio que, posteriormente, se celulariza con la citocinesis y la formación de membranas plasmáticas.

2.4. Patologías asociadas a alteraciones del ciclo celular

La patología más común debida a fallos en el control del ciclo celular es el cáncer. Se ha indicado previamente cómo los productos de dos antioncogenes, la proteína del retinoblastoma (Rb) y p53, están directamente involucrados en el control del ciclo. Un defecto en Rb hará que el factor E2F sea siempre activo y por lo tanto se producirá un incremento en la proliferación fuera de control. Igualmente, defectos en p53 llevan a la inestabilidad del genoma debido a que no habrá tiempo para reparar las posibles lesiones en el DNA y, además, no se inducirá la apoptosis en estas células. En un porcentaje muy elevado de tumores, por encima del 50% en algunos tipos, se ha comprobado que existen mutaciones en estos antioncogenes.

Se ha diseñado por modificación genética un adenovirus, Onyx-015, que sólo puede replicarse en células humanas carentes de proteína p53 y a las que mata. Actualmente, se están realizando

ensayos clínicos con este virus con el objetivo de matar selectivamente las células tumorales en las que se han producido mutaciones en el gen p53, sin afectar a las células sanas.

Los enfermos que padecen ataxia telangiectasia (ATM) tienen una alta probabilidad de aparición de cáncer. En esta enfermedad genética se transmite un gen mutado que codifica una de las proteína kinasas responsables de la fosforilación de p53 y, consecuentemente, de su activación. La mutación de este gen conlleva, por tanto, la falta de reconocimiento de lesiones producidas en el DNA. El problema se agrava para estos enfermos, ya que no se les puede tratar con radioterapia, debido a su sensibilidad a las mutaciones y a la falta de actividad de p53 que es rápidamente degradada al no poderse fosforilar por la proteína kinasa alterada, y también, finalmente, porque las células mutadas no mueren por apoptosis como ocurriría en células bien controladas.

Otros problemas encontrados en células tumorales son defectos en el gen *mad* que hacen que la proteína Mad no bloquee la anafase aunque queden cromosomas no unidos al huso mitótico. Por este motivo, la mitosis puede continuar prematuramente, produciéndose aneuploidía, caracterizada por el reparto desigual de los cromosomas a las células hijas. Se ha comprobado que muchas células cancerosas son aneuploides, lo que sugiere que las mutaciones en el gen *mad* son causa determinante de la aparición de cáncer. Un ejemplo concreto lo constituye la proteína Tax, que es codificada por el virus de la leucemia T humana. Esta proteína se une a Mad y la bloquea, impidiendo su papel en el control del huso mitótico. Así, la infección con el virus produce cáncer, y las células tumorales se caracterizan por la aparición de aneuploidía.

Existen otras muchas proteínas reguladoras del ciclo celular que son producto de protooncogenes. La mutación puede transformar éstos en los correspondientes oncogenes, lo que promoverá un aumento incontrolado en la proliferación.

3. Muerte celular. Apoptosis

Todas las células de los organismos pluricelulares pueden sufrir un proceso de muerte en beneficio del individuo del que forman parte. La muerte puede ser debida a un trauma físico, a una agresión externa con agentes químicos -exposición a agentes oxidantes, p. ej.-, a diferentes fallos en el metabolismo o al cumplimiento de un programa biológico por el que la célula debe morir. Sea cual sea la causa que induce la muerte, ésta se puede producir de dos maneras diferenciadas: por **necrosis** o por un proceso regulado llamado muerte celular programada o **apoptosis**.

La **necrosis** es un proceso agudo que se refiere a la muerte de células, tejidos u órganos producida normalmente por falta de riego sanguíneo como consecuencia de traumas físicos, químicos, irradiación o por la acción de algunos agentes infecciosos. Cuando se desencadena, la necrosis es irreversible y puede degenerar en gangrena cuando alcanza grandes áreas de un tejido u órgano. La probabilidad de aparición de gangrena se incrementa cuando se padecen enfermedades como diabetes o arteriosclerosis o en caso de inmunodeficiencia. La muerte celular por necrosis se caracteriza por la pérdida de la capacidad de la membrana plasmática para controlar el paso de agua e iones. Como consecuencia, la célula y sus orgánulos se hinchan y finalmente se rompen, vertiendo el contenido celular al tejido circundante, por lo que normalmente se produce una respuesta inflamatoria.

La muerte celular por **apoptosis** es un proceso regulado en el que la célula se suicida en beneficio del organismo. La célula se encoge y aparecen en su superficie vesículas o ampollas en un proceso conocido como **zeiosis**. Los orgánulos sufren algunas alteraciones bioquímicas, especialmente las mitocondrias que liberan citocromo *c* al citosol. El material genético nuclear se degrada. Se pierde la asimetría de los fosfolípidos de membrana y esto hace que se exponga fosfatidil serina en la superficie celular. El citoplasma se fragmenta originando numerosas vacuolas, denominadas "cuerpos apoptóticos", que incluyen orgánulos y fragmentos nucleares. Las células apoptóticas son fagocitadas por los macrófagos y las células dendríticas que reconocen la fosfatidil serina expuesta en la superficie a través de un receptor específico que no responde a otros fosfolípidos como fosfatidil colina o fosfatidil inositol. Estas células fagocíticas liberan citokinas que evitan la inflamación.

La decisión entre muerte por necrosis o por apoptosis radica en la causa que origina la muerte y, cuando ocurre por daño celular, en la extensión de los daños y afectación de los diferentes orgánulos. Los daños masivos siempre llevan a la muerte por necrosis mientras que daños más limitados pueden desencadenar el programa de la apoptosis.

La apoptosis es absolutamente necesaria para el desarrollo de los organismos pluricelulares, para que éstos se constituyan con el número adecuado de células y para que sus estructuras biológicas adquieran la forma apropiada. Varios ejemplos ilustran la importancia de la apoptosis: así, para la formación de los dedos en el feto se requiere la eliminación por apoptosis del tejido existente entre ellos. En el desarrollo del cerebro se necesita que se establezcan las sinapsis adecuadas entre las neuronas y para ello el exceso de células debe morir. Otro ejemplo en el que la apoptosis juega un papel evidente en el desarrollo animal es la eliminación de la cola de los renacuajos durante la metamorfosis a la forma adulta. Finalmente, la descamación del endometrio durante la menstruación es también originada por apoptosis de las células de la capa más externa de células musculares.

Además, la apoptosis es crucial para la eliminación de determinadas células que puedan constituir una amenaza para la integridad del organismo. Éste es el caso de células infectadas con virus o bacterias que pueden ser dirigidas hacia la apoptosis por los linfocitos T citotóxicos. A veces, los agentes infecciosos bloquean la apoptosis, por lo que es muy difícil eliminarlos, como ocurre con varias especies de micobacterias. Daños irreparables en el genoma de una célula pueden producir errores en el desarrollo o la aparición de cáncer, por lo que en estos casos también debe inducirse la apoptosis.

Las mutaciones que afectan a genes implicados en las cascadas metabólicas que inducen la apoptosis pueden ser la causa de múltiples malformaciones y de la susceptibilidad a padecer cáncer. En un porcentaje que en algunos tipos de tumores puede llegar hasta el 80%, existen defectos génicos en las células tumorales que impiden la acción inductora de la apoptosis de la proteína p53.

Los trabajos fundamentales sobre la regulación genética del desarrollo de órganos y sobre la apoptosis realizados por Sidney Brenner, H. Robert Horvitz y John E. Sulston fueron merecedores del premio Nobel de Medicina.

3.1. Maquinaria proteica para la apoptosis

La apoptosis es una forma de suicidio de las células que molecularmente se caracteriza por la hidrólisis de las macromoléculas fundamentales, entre ellas una serie de proteínas y el material genético. Por tanto, las moléculas ejecutoras esenciales serán proteasas y desoxirribonucleasas (DNAasas).

3.1.1. Proteasas

La mayor parte de los cambios observables en células apoptóticas se deben a la activación de las **caspasas**. Las caspasas constituyen una familia de proteasas muy bien conservadas a lo largo de la evolución que, por tanto, presentan mucha homología en individuos muy alejados filogenéticamente. Las caspasas humanas son muy semejantes a las encontradas en nematodos o insectos. Se han identificado más de una docena de ellas en humanos, de las que la mayoría participan en la apoptosis. Reciben el nombre por su mecanismo de acción: todas son cisteinil-proteasas y rompen los enlaces peptídicos en el lado carboxilo de un aspártico (**c**isteinil-**as**pártico-**p**rote**asas**).

Catalizan una cascada de proteólisis a semejanza de otras cascadas como la de la coagulación o la de la activación del complemento. Su distinta especificidad de sustrato radica en la secuencia de los tres aminoácidos situados en el lado amino del aspártico. Existen alrededor de 100 sustratos conocidos para las caspasas, siendo muchos de ellos proteínas que desempeñan papeles reguladores importantes en las células, mientras que otros participan en la degradación de estructuras celulares al ser activados por ellas. Finalmente, otros sustratos son proteínas no relacionadas con la muerte celular que, por azar, tienen la secuencia que les confiere susceptibilidad a las caspasas. Posiblemente, no han evolucionado mecanismos para evitar la degradación de este último tipo de sustratos, ya que es indiferente que se degraden debido a que el destino final de la célula es la muerte.

Tabla 2. SUSTRATOS DE CASPASAS IMPLICADOS EN LA APOPTOSIS

Tipo de sustrato	Función	Ejemplos
Proteínas pro y antiapoptóticas	• Amplificación de señales • Inactivación de inhibidores	Procaspasas, Bcl-2, Bcl-X_L, Bid
Componentes de la maquinaria apoptótica	• Inducción del fenotipo apoptótico	ICAD, gelsolina, PAK2, MEKK1, PKCδ
Proteínas estructurales	• Disrupción de la integridad celular	Filamentos intermedios, fodrina, queratinas, actina, β-catenina
Proteínas homeostásicas	• Disrupción de la síntesis de macromoléculas • Terminación de los mecanismos de reparación celular • Terminación de las señales de supervivencia	DNA-PKcs, PARP, HnRNPs, factores de transcripción
Otros	• En general, desconocida	Huntingtina, presenilinas, cPLA2

En la **Tabla 2** se recogen algunos de los principales sustratos de las caspasas. Cabe mencionar aquí a las propias procaspasas y a muchas proteínas de la familia Bcl-2 (*ver más adelante*) que están implicadas en el control de la apoptosis. Otros sustratos son componentes de la maquinaria apoptótica, entre los que se incluyen inhibidores de nucleasas, la gelsolina que participa en la reorganización de la actina, y diversas proteína kinasas que sugieren la implicación de mecanismos de fosforilación como inductores o potenciadores de la apoptosis. En este sentido, cabe destacar que se ha demostrado la necesidad de actividad CDK2 para que se complete el programa de la muerte celular, y el papel de la proteína p21, inducida por p53, como iniciador de cascadas de fosforilación activando a la proteína kinasa PAK2.

Otros sustratos son proteínas estructurales que participan en la degradación de la lámina nuclear, formada por proteínas filamentosas que estructuran el núcleo, sirven de anclaje a los cromosomas y forman los poros nucleares. También son sustratos otras proteínas que degradan las fibras de actina y, en general, participan en la degradación del citoesqueleto, que se ve profundamente alterado durante la apoptosis.

Un conjunto importante de proteínas que participan en el control de la expresión génica son también sustratos de las caspasas, ribonucleoproteínas heterogéneas nucleares, factores de transcripción, la poli-ADP-ribosa polimerasa (PARP) y la subunidad catalítica de la DNA-proteína kinasa (DNA-PK). La proteína PARP cataliza la síntesis de poli-ADP-ribosa que a su vez puede interaccionar con muchas proteínas entre las que se incluyen las histonas, desempeñando un papel esencial en la estructura de la cromatina. La DNA-PK es una proteína kinasa de la familia fosfatidil-inositol-3-kinasa que fosforila fundamentalmente factores de transcripción y participa en la estructuración de los telómeros, en la reparación del DNA y en la recombinación V(D)J.

Las caspasas se sintetizan en forma de proenzimas polipeptídicas catalíticamente inactivas que, típicamente en mamíferos, contienen tres dominios **(Figura 13)**. Un dominio amino o prodominio que es variable, un dominio de tamaño entre 17 y 20 kDa (p20) y el tercero (p10) de aproximadamente 10 kDa. La clasificación de las caspasas se realiza en función del tipo de dominio amino que presentan. Algunas, como la caspasa-8 y la caspasa-10, llevan dominios conocidos como DED

(***D**eath **E**fector **D**omain,* dominio efector de la muerte) y se activan al interaccionar con los dominios intracelulares de receptores de membrana como el CD95 o el receptor del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α). Otras, entre las que se incluyen las caspasas 1, 2, 4, 5, 9, 11 y 12, llevan dominios conocidos como CARD (***C**aspase-**A**ctivating **R**ecruitment **D**omain*, dominio para la activación de caspasas por reclutamiento). Este dominio permite la asociación de las procaspasas para formar complejos activos en el citosol. Finalmente, otras caspasas como la caspasa-3 tienen un prodominio muy corto y están en el segundo escalón de las cascada proteolítica, siendo únicamente activadas por otras caspasas activas que liberan sus dominios p10 y p20.

Estas formas de procaspasas pueden activarse por rotura proteolítica liberando las subunidades p10 y p20 que normalmente forman heterotetrámeros activos. La activación de las procaspasas puede ocurrir por autocatálisis, por la acción de otra caspasa o por la actividad de otras proteasas no caspasas **(Figura 14)**. Se ha demostrado que, en la mayoría de los casos, la activación de la

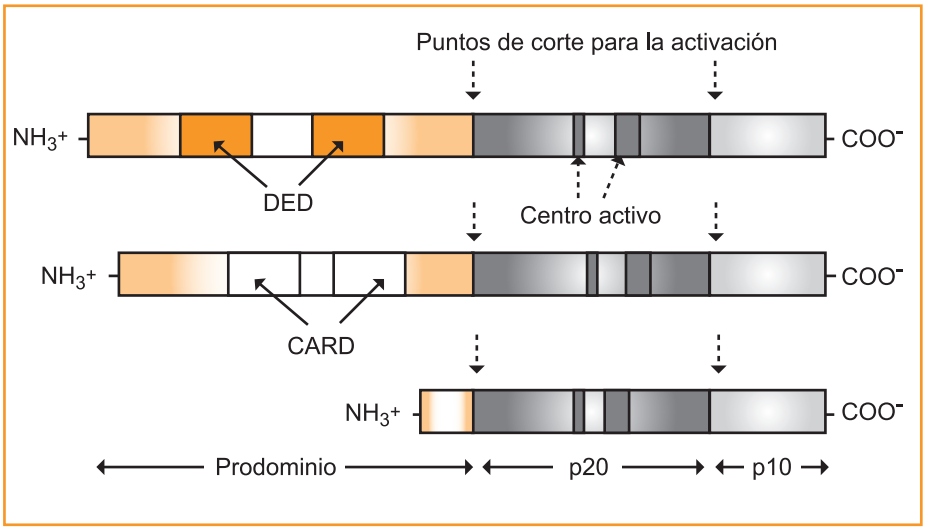


Figura 13. *Dominio y posición aproximada de los restos de aminoácidos que conformarán el centro activo en los principales tipos de caspasas.*

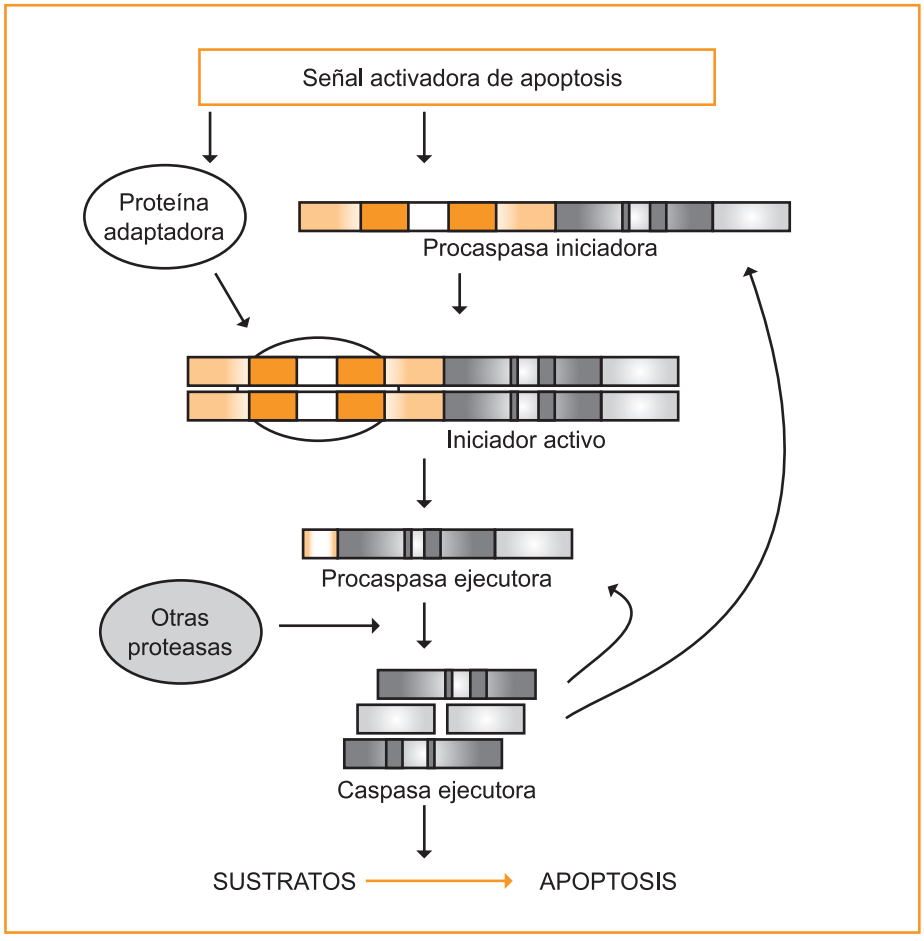


Figura 14. *Mecanismos de activación de las caspasas. La apoptosis también puede iniciarse por la activación de las procaspasas llevada a cabo por otras proteasas.*

apoptosis no requiere ni transcripción, ni traducción, lo que sugiere que las procaspasas están presentes en la célula en estado inactivo y que pueden ser activadas en respuesta a estímulos externos o internos, iniciándose la apoptosis.

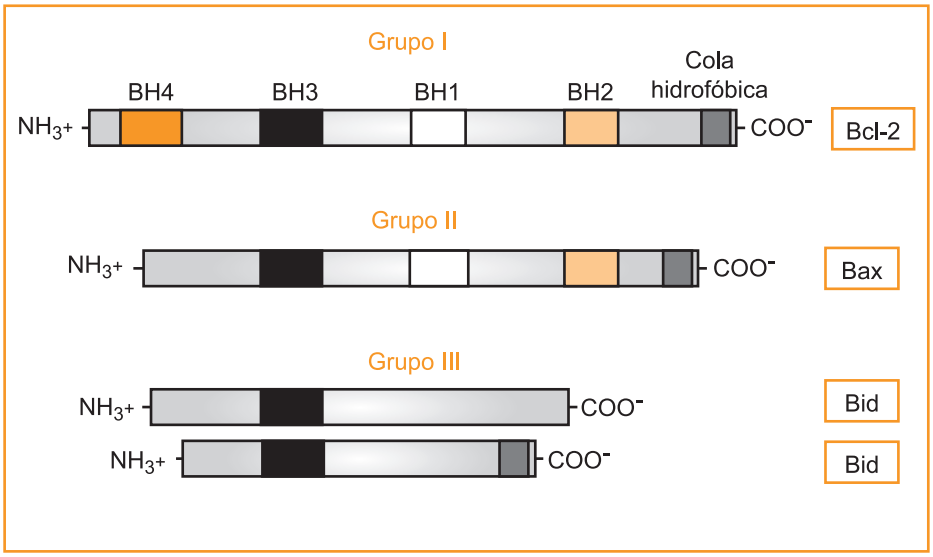


Figura 15. *Los tres grupos en que se clasifican las proteínas de la familia Bcl-2.*

3.1.2. Nucleasas

Una característica común de las células apoptóticas es la degradación del DNA en fragmentos de diferentes tamaños pero que son múltiplos de 180 pares de bases aproximadamente. Esto indica que los cromosomas son rotos en la zona de unión entre los nucleosomas. La enzima responsable es una endonucleasa conocida como CAD (***C**aspase-**A**ctivated-**D**NAase*, DNAasa activada por caspasas). Esta enzima está presente en las células formando un complejo con una proteína inhibidora que la inactiva (ICAD). La caspasa-3 activa degrada proteolíticamente a la proteína inhibidora y libera a la enzima catalíticamente activa. Una vez libre, ésta actúa sobre el DNA rompiendo la doble hebra entre los nucleosomas y produciendo los fragmentos típicos de la apoptosis.

Otra endonucleasa que participa en la degradación del DNA es la EndoG. Esta proteína está codificada en el genoma nuclear, pero tiene una señal de importación a la mitocondria, donde se suele localizar. Parece ser que la función de esta proteína es participar en la replicación del cromosoma mitocondrial. La inducción de la apoptosis en la célula promueve la salida de EndoG al citosol y su migración al núcleo, donde participa en la rotura del DNA.

3.1.3. Otras proteínas implicadas en la apoptosis

Las proteasas y las endonucleasas mencionadas constituyen las principales herramientas que ejecutan el plan para la muerte celular. Sin embargo, además de estas proteínas existen otras muchas que participan en el desencadenamiento de la apoptosis y en su modulación. En este apartado se describen someramente las más importantes, agrupadas por familias o por sus mecanismos de acción.

3.1.3.1. Familia Bcl-2

Deben su nombre al primer gen que se identificó de los implicados en la aparición de un linfoma de células B (***B**-**C**ell **L**ymphoma*). Constituye una amplia familia génica cuyos miembros se han clasificado por su homología de secuencia en tres grupos **(Figura 15)**. Los miembros del **grupo I**, entre ellos las proteínas Bcl-2, Bcl-w y Bcl-X_L, poseen cuatro regiones de homología, BH1, BH2, BH3 y BH4, y una secuencia hidrofóbica carboxilo terminal que ancla las proteínas en la membrana mitocondrial externa o en el retículo endoplásmico orientadas hacia el citosol. Todas ellas tienen actividad antiapoptótica, protegiendo a las células de la muerte. Las proteínas del **grupo II**, entre las que se incluyen las proteínas Bax y Bak, difieren en la secuencia amino terminal y mantienen las regiones BH1, BH2 y BH3, así como la cola hidrofóbica. Finalmente, las proteínas del **grupo III**, entre ellas Bim, Bid y Bik, presentan en común únicamente la región BH3, por lo que parece que han evolucionado por un fenómeno de convergencia adaptativa. Otras, sin embargo, tienen mayor grado de homología con las de los grupos I y II, indicando

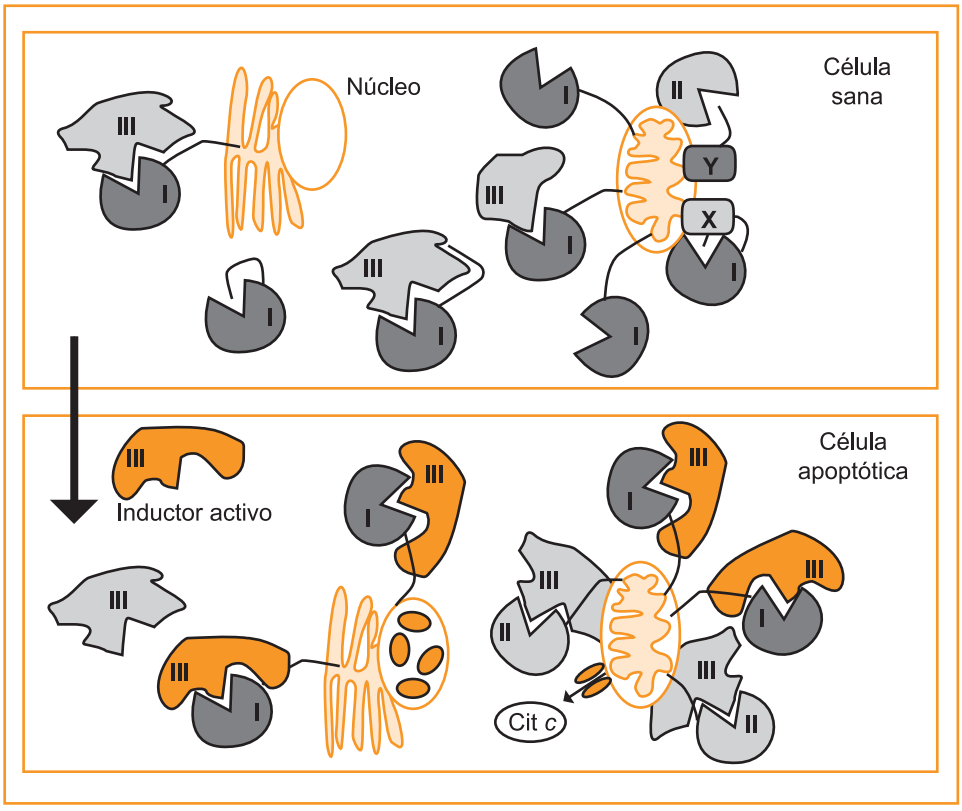


Figura 16. *Papel de las proteínas de la familia Blc-2 en el control de la apoptosis.*

su origen evolutivo común. Las proteínas de los grupos II y III son proapoptóticas.

Todas las proteínas del grupo I forman entre sus cuatro regiones BH un bolsillo hidrofóbico en el que pueden interaccionar otras proteínas del grupo III por su región BH3. Las proteínas del grupo II forman también un bolsillo hidrofóbico que, aunque ligeramente distinto, ya que carecen de la región BH4, es accesible para otras proteínas como la proteína de andamiaje 14-3-3 y otras con regiones BH3. Además, todas las proteínas de la familia pueden interaccionar débilmente con membranas, principalmente con la membrana mitocondrial externa. Cuando se inserta la región hidrofóbica carboxilo terminal en una membrana, la asociación se hace muy fuerte. Esta región hidrofóbica puede estar, por tanto, asociada a la membrana, en el bolsillo hidrofóbico formado por las regiones BH o, finalmente, interaccionando con proteínas chaperonas en el citosol.

Existen diferentes modelos que explican el papel de las proteínas de la familia Bcl-2 en el control de la apoptosis. En la **Figura 16** se presenta un resumen simplificado de las hipótesis más actuales. El destino de la célula está condicionado por la concentración relativa de proteínas pro y antiapoptóticas. Un exceso de proteínas del grupo I, ancladas en las membranas (Bcl-2, Bcl-w) o en el citosol (Bcl-X_L), bloquea la actividad de las proteínas proapoptóticas del grupo III y de otras proteínas efectoras (X, en la Figura). La actividad de las proteínas del grupo II (Bax) está inhibida por su unión a proteínas 14-3-3 (Y en la Figura). Las proteínas 14-3-3 constituyen una familia muy conservada de proteínas citoplasmáticas implicadas en el control de varios procesos celulares por su interacción con diversas proteínas reguladoras. Algunas proteínas de la familia están implicadas en el control del tráfico intracelular de proteínas.

La inducción de la apoptosis desplaza este equilibrio al incrementarse la concentración de proteínas del grupo III (Bim, Bik, Bid) que, al no poder ser bloqueadas por las, en este momento, escasas proteínas antiapoptóticas, llegan a activar a las proteínas del grupo II. Éstas, interaccionando fuertemente con las membranas mitocondriales, alteran sus mecanismos homeostáticos y, bien por la formación de poros o bien por la rotura de la membrana externa, producen graves alteraciones en los equilibrios iónicos, en la síntesis de ATP y la salida de citocromo *c* al citosol.

3.1.3.2. Proteínas adaptadoras

Estas proteínas participan en la formación de complejos proteicos con las procaspasas facilitando su activación a caspasas. Las proteínas adaptado-

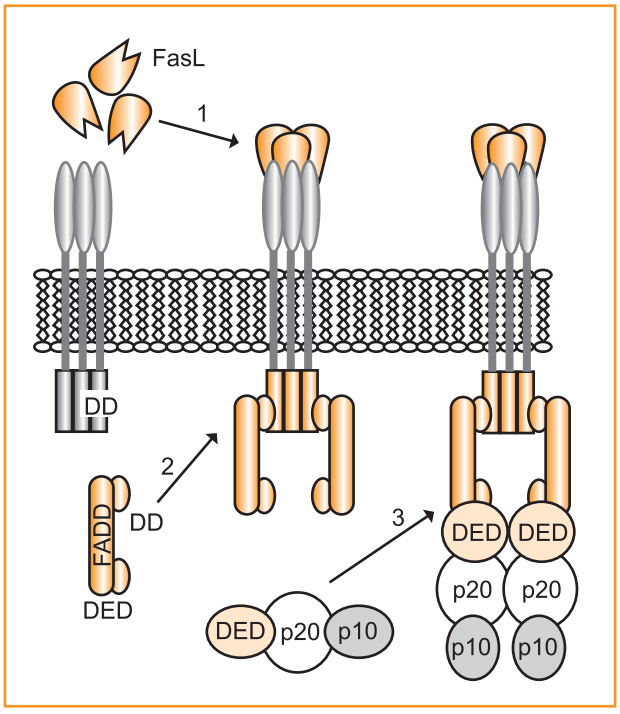


Figura 17. *Inducción de apoptosis por activación del receptor CD95 o Fas. DD: dominio de muerte; DED: dominio efector de muerte; FADD: dominio de muerte asociado a Fas; FasL: ligando de Fas.*

ras más importantes son **FADD** (***F**as-**A**ssociated **D**eath **D**omain*, dominio de muerte asociado a Fas) y **APAF-1** (***A**poptosis **P**rotease-**A**ctivating **F**actor-**1**,* factor activador de proteasas en la apoptosis).

FADD contiene un dominio de muerte (DD) y un dominio efector de muerte (DED). El dominio DD sirve para acoplarse a un receptor activado por un ligando en la membrana plasmática, como el receptor de TNF, y el dominio DED interacciona con la procaspasa-8. La cercanía de varias moléculas de procaspasa, provocada por su asociación a la proteína adaptadora, induce su conversión en caspasas con la consiguiente activación de la apoptosis por la vía extrínseca (*ver más adelante*).

APAF-1 tiene un papel semejante en la activación de la procaspasa-9 en el citosol. Este adaptador se activa por su asociación con varias proteínas, entre ellas el citocromo *c* que ha salido al citosol, y en presencia de ATP recluta a varias moléculas de procaspasa-9. Se constituye, así, un agregado proteico conocido como **apoptosoma**, con actividad de caspasa, que induce la muerte de la célula. El extremo 5' no traducible del mRNA de APAF-1 contiene secuencias muy ricas en guanina y citosina que pueden formar estructuras secundarias. Se ha descrito la existencia en esta región de un elemento secuencial IRES (***I**nternal **R**ibosome **E**ntry **S**ite*, sitio interno de entrada de ribosomas) que es activo en todos los tipos de células humanas estudiadas. Este sitio garantiza la síntesis de APAF-1 aun en condiciones en que la traducción dependiente de la caperuza de guanina esté comprometida.

3.1.3.3. Receptores

Los receptores de la muerte celular están situados en la membrana plasmática y transmiten señales al interior de la célula para iniciar la apoptosis en respuesta a ligandos específicos. Pueden activar una cascada de activación de caspasas en segundos tras la unión de los ligandos. Estos receptores pertenecen a la superfamilia génica del factor de necrosis tumoral (TNF). Los mejor caracterizados son el receptor CD95 o Fas, el TNFR-1 (Receptor-1 de TNF) y varios receptores TRAIL (***T**NF-**R**elated **A**poptosis **I**nducing **L**igand,* apoptosis inducida por ligando relacionada con TNF) (*ver Capítulo 1.4*).

Cuando el receptor Fas interacciona con su ligando (FasL) se produce su trimerización y la transducción de la señal a los dominios citoplasmáticos, que ahora pueden interaccionar con la proteína adaptadora FADD a través de sus dominios de muerte homólogos (DD) **(Figura 17)**. A continuación, la proteína FADD ligada al receptor puede reclutar a varias moléculas de procaspasa-8 interaccionando por los respectivos dominios DED. La proximidad entre las procaspasas hace que resulten autoactivadas, hidrolizando los enlaces peptídicos correspondientes y liberando las subunidades p20 y p10, que forman heterotetrámeros activos de caspasa-8. El caso del receptor TNFR-1 es un poco más complejo **(Figura 18)**. Su activación por TNF hace que sus dominios intracelulares se asocien con una proteína adaptadora TRADD (***T**NF**R**-**A**ssociated **D**eath **D**omain,* dominio de muerte asociado al receptor de TNF). La proteína TRADD puede transducir la señal a través de diversas rutas de señalización activando NF-κB o AP-1 (*ver Capítulo 1.5*) o reclutar a la proteína FADD y activar a la caspasa-8. Otras vías de señalización a través de este receptor pueden activar a la caspasa-2.

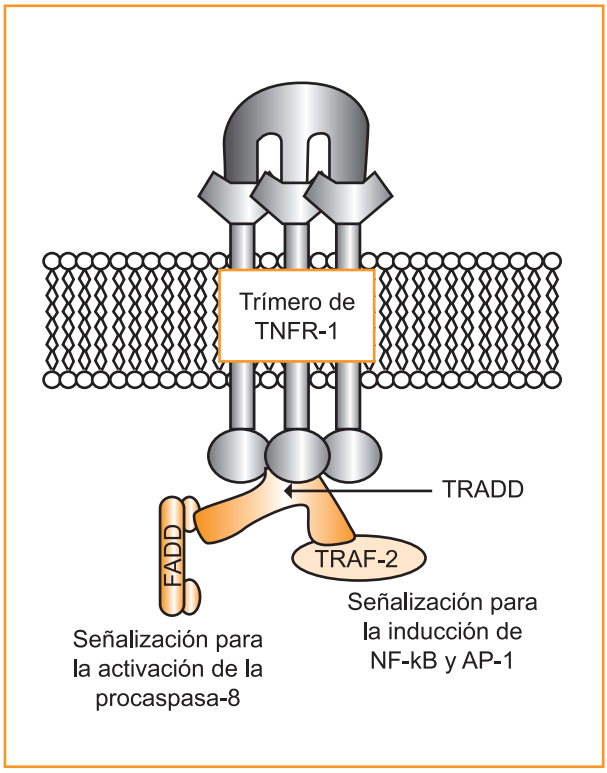


Figura 18. *Transducción de señales por el receptor-1 del factor de necrosis tumoral (TNFR-1). TRADD: dominio de muerte asociado a TNFR; TRAF-2: factor asociado a TRADD.*

3.1.3.4. Proteínas desencadenantes de la apoptosis

En este grupo, se incluyen algunas proteínas que, liberadas por el núcleo al citoplasma o por las mitocondrias al citosol, ponen en marcha el proceso de activación de las caspasas que lleva a un punto de no retorno, y la célula muere. Entre ellas, merece la pena destacar aquí a algunas histonas y al citocromo *c*. La histona H1 es una proteína básica que es un componente esencial de los nucleosomas. Su liberación al citosol hace que interaccione con las mitocondrias, y participa en la desintegración de la membrana externa o en la formación de poros que favorecen la salida del citocromo *c*. El citocromo *c* es una proteína pequeña localizada en la cara externa de la membrana mitocondrial interna. Actúa en reacciones de óxido-reducción en la cadena transportadora de electrones, reduciéndose por el complejo III y oxidándose por el complejo IV. Su salida al citosol **(Figura 19)**, aun en muy pequeña concentración y en una zona localizada de la célula, hace que interaccione con el dominio carboxilo del receptor de inositol-1,4,5-trisfosfato (IP_3) en el retículo endoplásmico cercano y se produzca un incremento en la concentración de calcio citosólico. El calcio liberado será captado por las mitocondrias y producirá la salida masiva de citocromo *c* de todas las mitocondrias celulares, lo que desencadena la estructuración de los apoptosomas y la muerte celular.

Muy recientemente se ha descrito un posible papel de la cofilina en la inducción de la apoptosis. La cofilina es una proteína de la familia de factores que intervienen en la despolimerización de la actina. En células en cultivo, la proteína desfosforilada se asocia a la membrana mitocondrial externa en respuesta a diferentes tratamientos inductores de apoptosis. La translocación a la mitocondria ocurre en un periodo de tiempo muy corto, desde luego antes de la activación de las procaspasas, y puede estar relacionada con la salida de citocromo *c* al citosol.

Se ha descubierto, además, otra proteína inductora de la apoptosis, la proteína AIF (***A**poptosis **I**nducing **F**actor,* factor inductor de apoptosis). AIF es una flavoproteína localizada en el espacio intermembranoso de las mitocondrias que, cuando es liberada al citosol, puede llevar a la célula a la muerte por mecanismos independientes de la activación de las caspasas y por una ruta que, aunque no totalmente conocida, implica su traslado al núcleo y la destrucción del material genético. Aunque en la ruta no están implicadas las caspasas, sí que se produce la activación de las proteínas Bax y Bak, posiblemente mediada por otras proteínas de la familia Bcl-2 con el dominio BH3, como las proteínas Bid y Bim.

3.1.3.5. Inhibidores de la apoptosis

Dejando para más adelante el papel de diversas proteínas reguladoras, en este apartado se describirán varios tipos de proteínas que actúan directamente inhibiendo o bloqueando la muerte celular. Entre ellas, cabe destacar las proteínas conocidas como inhibidores de apoptosis **(IAP)**, la familia de proteínas FLIP (***FLICE-Like Inhibitory Proteins***, proteínas inhibidoras semejantes a FLICE) y las proteínas de choque térmico.

Las proteínas IAP se encontraron en insectos infectados por virus cumpliendo el papel, fundamental para el virus, de inhibir la muerte de las células antes de que el virus tuviera tiempo de multiplicarse. Posteriormente, se han encontrado también en mamíferos. Su actividad radica en que se unen directamente a las caspasas y bloquean su

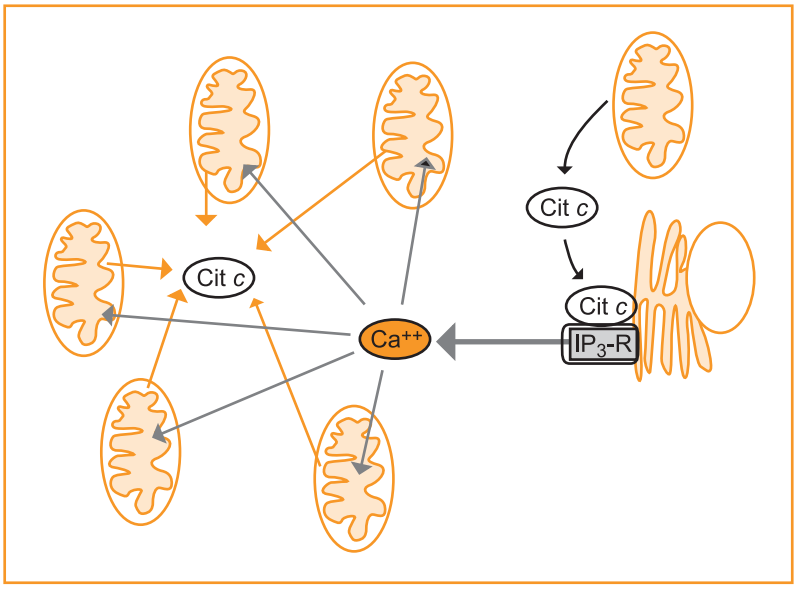


Figura 19. *Autoinducción mediada por Ca^{++} de la salida de citocromo c al citosol. IP_3-R: receptor del inositol-1,4,5-trifosfato.*

actividad proteolítica desempeñando, por tanto, un papel fundamental en el destino celular. La sobreexpresión de estas proteínas en modelos animales, especialmente de la IAP ligada al cromosoma X, tiene un papel protector frente a enfermedades neurodegenerativas. Por otra parte, se ha demostrado la existencia de estas proteínas en casi todos los tipos de cáncer y en las líneas celulares derivadas de tumores, por lo que actualmente se considera que son oncogenes y se están desarrollando tratamientos coadyuvantes en quimioterapia para bloquear su actividad y favorecer la muerte de las células tumorales.

Se ha descubierto un potente inhibidor de las IAP conocido con las siglas de Smac (***S**econd **m**itochondria-derived **a**ctivator of **c**aspases*, segundo activador de caspasas, derivado de mitocondrias) o DIABLO (***D**irect **IA**P-**B**inding protein with **Lo**w isoelectric point,* proteína de unión directa a IAP con bajo punto isoeléctrico). Esta proteína se comporta, por tanto, como un activador de la apoptosis al bloquear la actividad de las IAP. Se libera desde las mitocondrias al citosol en las células inducidas para la muerte.

Las proteínas FLIP constituyen una familia completa de proteínas con dominios DED. Algunas son proteínas de virus de la clase γ-herpesvirus (v-FLIPS) y se han encontrado muchas variantes humanas de un gen homólogo que se expresa dando lugar a dos proteínas llamadas c-FLIP. El gen se localiza en una agrupación génica con los de la caspasa-8 y la caspasa-10, lo que sugiere su evolución por duplicación génica. Las proteínas FLIP contienen dos dominios DED y alguna posee, además, los dos dominios p20 y p10 característicos de las caspasas, aunque carecen de restos de aminoácidos esenciales para la catálisis, concretamente, no poseen la cisteína del centro catalítico. Su mecanismo de acción, aunque no totalmente dilucidado, parece basarse en su capacidad para evitar el reclutamiento de las caspasas por los dominios intracelulares activos de los receptores de muerte.

Las proteínas de choque térmico, HSP (***H**eat **S**hock **P**roteins*), constituyen un conjunto de proteínas que en muchos organismos se inducen en respuesta a las altas temperaturas y a otras formas de estrés. Muchas de estas proteínas son chaperonas moleculares.

Numerosos estudios han demostrado que su sobreexpresión hace que las células sean muy resistentes a la apoptosis inducida por hipertermia, estrés oxidativo, quimioterapia y radiación. La inactivación de la HSP-70 hace que las células sean extremadamente sensibles al calor. Se ha demostrado que la proteína HSP-70 interacciona directamente con el dominio CARD de APAF-1 y bloquea su asociación y, por tanto, la formación del apoptosoma. Además, HSP-70 interacciona con JNK-1 y detiene su vía de señalización intracelular. Finalmente, impide la apoptosis por mecanismos independientes de la activación de las caspasas, a través de su interacción con AIF. Otras HSP tienen, asimismo, papeles destacados. La HSP-27 interacciona con el citocromo *c* en el citosol, y la HSP-90 lo hace con APAF-1.

3.2. Mecanismos de la apoptosis

Existen básicamente dos tipos de mecanismos que pueden dirigir a una célula hacia la apoptosis por activación de las caspasas. El primero, originado por señales intracelulares, constituye la ruta intrínseca o mitocondrial. El segundo, inducido por la

acción de factores extracelulares activadores de la muerte celular que interaccionan con receptores en la superficie de la membrana plasmática, constituye la ruta extrínseca. Entre estos activadores se encuentran el factor de necrosis tumoral α (TNF-α), la linfotoxina y el ligando de la proteína Fas (FasL). Una vez activada la ruta se desencadena la proteólisis de los sustratos de las caspasas y se activan otros que llevan a la fagocitosis de la célula muerta.

3.2.1. Ruta intrínseca

Se desencadena en respuesta a señales intracelulares generadas cuando las células sufren un fuerte estrés, que puede ser debido a irradiación, infecciones virales, estrés oxidativo u otros. La proporción entre las distintas proteínas Bcl-2 determina la cantidad de estrés que puede sufrir una célula antes de dirigirse hacia la apoptosis.

Las señales intracelulares para inducir la apoptosis pueden provenir del núcleo que, como consecuencia del estrés, sufre daños y se acumula la proteína p53 que se libera al citosol, al igual que puede liberarse la histona H1.2. La señal puede también originarse en la mitocondria cuando sufre daños severos en la estructura de sus membranas, produciéndose alteraciones iónicas graves que la incapacitan para la fosforilación oxidativa. Se inicie la señal en el núcleo o en la mitocondria, son las mitocondrias las que inducen la cascada de activación de caspasas.

De todas las variantes de histonas, sólo la H1.2 cuando se transloca al citosol provoca la salida de citocromo *c* desde la mitocondria. La proteína p53 citosólica también hace que se libere citocromo *c*, mediando la activación de Bax. El incremento en la concentración local de citocromo *c* induce una salida masiva de Ca^{++} al citosol y, como consecuencia, de más citocromo *c* **(Figura 19)**. Los daños masivos en las mitocondrias producen la salida de otras muchas macromoléculas, entre ellas la proteína DIABLO, que actuará inhibiendo a los IAP (inhibidores de apoptosis), la endonucleasa EndoG, que participará en la rotura del DNA nuclear, y la proteína AIF, que, como se ha comentado previamente, induce muerte celular independiente de caspasas y participa también en la rotura del material genético. También son liberadas de las mitocondrias algunas procaspasas, incluyendo la 2, la 3 y la 9.

En este escenario, la apoptosis es irreversible, ya que se formarán los apoptosomas y comenzará la cascada proteolítica de activación de las caspasas **(Figura 20)**. Los apoptosomas se constituyen por la agregación de siete moléculas de APAF-1, siete de citocromo *c* y siete de ATP formando una estructura en forma de rueda. Este complejo recluta a siete moléculas de procaspasa-9. Para explicar la activación de la procaspasa-9 se han propuesto distintos modelos, y puede estar implicada la asociación de dos apoptosomas que se activarán el uno al otro. En cualquier caso, la rotura proteolítica da lugar a los heterotetrámeros activos de caspasa-9. Ésta, a su vez, activará a la procaspasa-3 que actuará como ejecutora sobre sus múltiples sustratos, produciendo finalmente la muerte.

3.2.2. Ruta extrínseca

La señal para el inicio de la apoptosis puede recibirse desde el exterior de la célula a través de un receptor de membrana, como pueden ser TNFR-1 o Fas, al que se une su ligando y se induce la muerte. La activación del receptor hace que reconozca intracelularmente a la proteína adaptadora FADD, la cual reclutará a la procaspasa-8, que por proximidad resultará activada a la forma de caspasa-8 **(Figura 20)**. La estructura del receptor activo con todos sus ligandos se conoce como DISC (***D**eath-**I**nducing **S**ignalling **C**omplex*, complejo señalizador inductor de muerte). La activación de la procaspasa-8 resulta inhibida por el homólogo degenerado de las caspasas c-FLIP que, al poseer dominios DD, impide el reclutamiento de las moléculas de procaspasa por la proteína FADD.

Una vez en el citosol, la caspasa-8 activa produce la rotura proteolítica de Bid, proteína proapoptótica del grupo II de la familia Bcl-2, que se activa y facilita la salida de citocromo *c* desde las mitocondrias en función de la concentración de otras proteínas antiapoptóticas de la familia, lo que constituye la conexión entre esta ruta y la intrínseca. Ambas rutas también confluyen en la parte final, ya que la caspasa 8 participa en la activación de la caspasa-3 y también en la rotura de diversos sustratos, actuando como caspasa ejecutora.

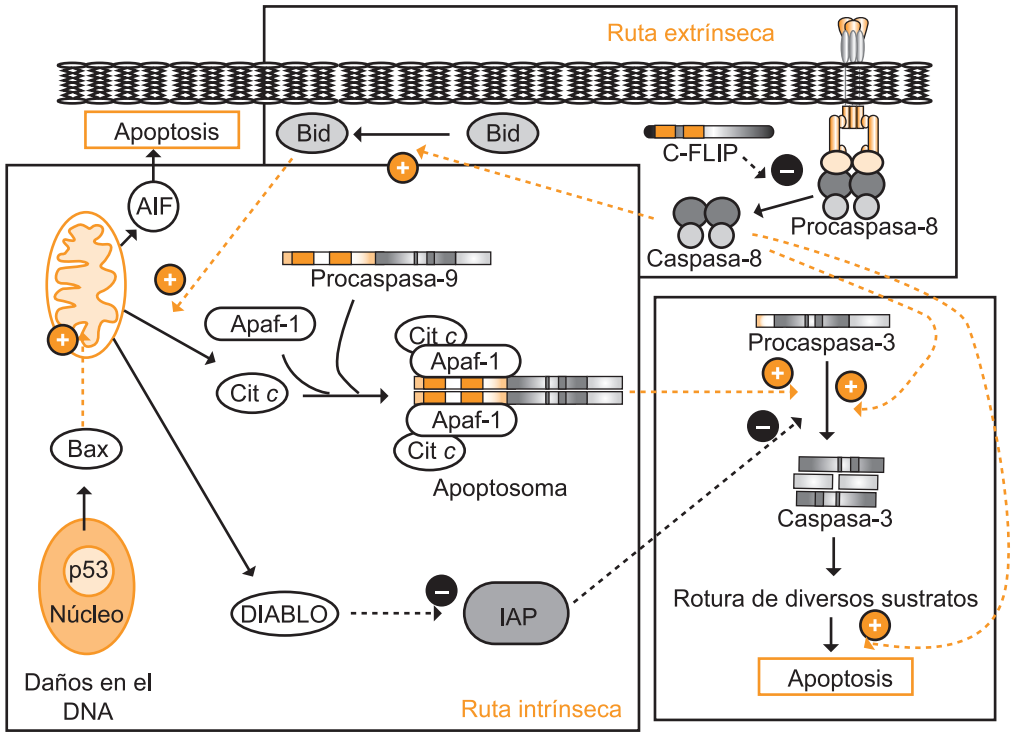


Figura 20. *Las dos rutas hacia la muerte celular programada. La ruta intrínseca se suele iniciar en el núcleo por daños en el DNA. La ruta extrínseca se inicia por la activación de un receptor de membrana. Ambas rutas confluyen en la activación de la procaspasa-3. El papel de las proteínas Bcl-2 del grupo I que se oponen a la apoptosis no está reflejado para simplificar la Figura.*

3.2.3. Otros mecanismos implicados en la apoptosis

Como se ha visto en el apartado anterior **(Figura 20)**, la muerte celular programada converge en una ruta central ejecutora en la que se activan las caspasas. Cualquiera que sea la ruta iniciadora, las caspasas activadas producen la rotura proteolítica de múltiples sustratos **(Tabla 2)** y la muerte celular. Durante su ejecución, todas las estructuras subcelulares sufren modificaciones, aunque no se evidencien cambios ultraestructurales en los orgánulos citoplasmáticos. Una de las alteraciones importantes es la permeabilización de las membranas.

Aunque en esta exposición se ha hecho hincapié en el papel del núcleo y de la mitocondria en el desencadenamiento de la ruta intrínseca de muerte, no se debe excluir de la discusión el papel de otros orgánulos. De hecho, todos ellos poseen sensores que ante una lesión pueden disparar mecanismos de reparación o, por el contrario, llevar a la célula a la muerte.

En este apartado se van a discutir algunos mecanismos importantes de la apoptosis, diferentes a los ya mencionados, clasificados por su localización subcelular.

3.2.3.1. Mitocondrias

La permeabilización de las membranas mitocondriales es un suceso fundamental en la apoptosis. En general, la membrana externa se hace permeable a las proteínas antes que la membrana interna. La permeabilización está controlada en primer lugar por la relación entre proteínas antiapoptóticas (Bcl-2, Bcl-XL) y proteínas proapoptóticas (Bax, Bid) de la familia Bcl-2 que pueden translocarse desde otros orgánulos. En la formación de poros están implicadas otras proteínas como el canal de aniones dependiente de voltaje (VDAC) y la translocasa de nucleótidos de adenina (ANT).

En mitocondrias aisladas, la permeabilización en respuesta al estrés se puede inducir por una gran variedad de compuestos químicos e iones, tales como el Ca^{++}, radicales libres de oxígeno, el ganglíosido GD_3, el ácido araquidónico, el óxido nítrico y los peroxidonitratos. Todos ellos pueden actuar sobre ANT y convertirlo en un poro no específico. Otros agentes inductores son la bilirrubina, las sales biliares y la proteína β-amiloide. También inducen cambios en la mitocondria distintas citotoxinas producidas por agentes infecciosos y algunos inhibidores de la cadena transportadora de electrones que desencadenan la apoptosis. Las alteraciones en la cadena transportadora de electrones favorecen además la generación de radicales libres de oxígeno que potencian el efecto.

3.2.3.2. Núcleo

Las roturas en la doble hebra del DNA son localizadas por varias proteínas que inducen la fosforilación y estabilización de p53. Si el daño no es reparado, se puede llegar a desencadenar la apoptosis a través de la permeabilización de las membranas mitocondriales por varios mecanismos. p53 actúa reprimiendo la síntesis de la proteína antiapoptótica Bcl-2. Como factor de transcripción induce la expresión de varias proteínas proapoptóticas como Bax y APAF-1. De igual modo, induce la síntesis de proteínas mitocondriales como la prolina oxidasa, generadora de radicales libres de oxígeno, y de proteínas de la matriz que disipan la fuerza protón motriz por mecanismos no conocidos. Por otra parte, la proteína p53 en el citosol migra a las mitocondrias donde interacciona con HSP-70 y bloquea su efecto antiapoptótico.

Las alteraciones más importantes inducidas en el núcleo cuando se dispara la apoptosis son la inactivación de enzimas claves en la reparación y replicación del DNA, como la DNA topoisomerasa II y la poli-ADP-ribosa polimerasa (PARP). La degradación de la lámina nuclear produce la fragmentación del núcleo y un fenómeno de marginación, debido a la condensación de la cromatina cerca de la membrana, que se visualiza al microscopio con imágenes típicas en forma de media luna. Finalmente, la rotura de ICAD, un inhibidor de la DNAasa activada por caspasas (CAD), y la importación de EndoG desde la mitocondria, así como del factor inductor de apoptosis (AIF) producen la rotura típica del DNA en las zonas de unión entre los nucleosomas.

3.2.3.3. Retículo endoplásmico

El retículo endoplásmico, ER, en respuesta a señales de estrés, puede participar en el inicio de la apoptosis por dos mecanismos principales, a saber, por la regulación de la concentración de Ca^{++} citosólico y por la respuesta a proteínas desplegadas. El papel del Ca^{++} en la permeabilización generalizada de las mitocondrias y la salida de citocromo *c* al citosol ya se ha comentado **(Figura 19)**. Además, el Ca^{++} es un segundo mensajero intracelular que desencadena multitud de respuestas y está relacionado también con la respuesta al incorrecto plegamiento de las proteínas. Las proteínas Bcl-2 pueden localizarse, además de en las membranas mitocondriales, en el ER. Un exceso de proteínas Bcl-2 en esta compartimentación elimina su efecto antiapoptótico en las mitocondrias y, además, favorece la salida de calcio. La calpaína es una cisteinil-proteasa citosólica que se activa cuando se incrementa la concentración de Ca^{++} en el citosol. Actúa liberando a la caspasa-12 al hidrolizar el anclaje que posee en las membranas del ER y conecta, por tanto, con la activación de la cascada proteolítica.

La respuesta a un incremento de proteínas desplegadas o incorrectamente plegadas tiene varios componentes, entre los que destaca la inhibición generalizada de la traducción por hidrólisis del RNA ribosómico 28S y por la fosforilación del factor de inicio eIF2-α. Se activan factores de transcripción que se translocan al núcleo e inducen la expresión de genes de estrés, incluyendo la síntesis de chaperonas que favorecen el plegamiento de proteínas en el ER, entre ellas la calreticulina, una chaperona de unión a glicoproteínas que sensibiliza a la célula ante señales proapoptóticas, y el factor de transcripción GADD153, que disminuye la expresión de Bcl-2.

3.2.3.4. Aparato de Golgi

En las membranas del aparato de Golgi existen numerosas proteínas inductoras de apoptosis, como la caspasa-2 y los diferentes receptores de muerte TNF-R1, CD95, etc. Se ha propuesto que p53 puede inducir la translocación de los receptores a la membrana plasmática. La síntesis de un

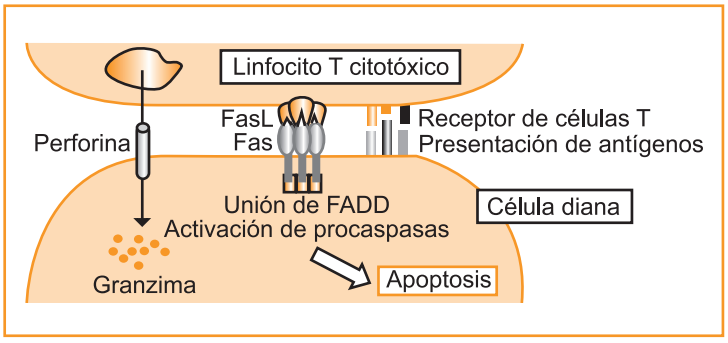


Figura 21. *Inducción de apoptosis por linfocitos T citotóxicos a través de Fas.*

inductor de la permeabilización mitocondrial, el ganglíosido GD_3, es catalizada por una sintasa localizada en el aparato de Golgi. Una proteína de la familia de GTPasas (RhoB) que se encuentra normalmente farnesilada en las membranas del Golgi se ha implicado también en la apoptosis. Un inhibidor de la farnesil transferasa libera a la proteína RhoB, pudiendo participar así en el desencadenamiento de la muerte celular. Finalmente, la activación local de la caspasa-2 la libera al citosol y puede inducir la cascada proteolítica de activación de otras caspasas.

3.2.3.5. Lisosomas

Las catepsinas son proteasas lisosomales que se han implicado en la inducción de la apoptosis, ya que en algunos casos la liberación de catepsinas por los lisosomas precede a la del citocromo *c* por las mitocondrias. La inducción de la esfingomielinasa lisosomal puede estar relacionada con este proceso, ya que produciría niveles altos de ceramidas que activan la autoproteólisis de la procatepsina D a la forma activa de catepsina D. Una proteasa lisosomal relacionada con la catepsina L rompe a la proteína Bid generando una proteína truncada capaz de inducir permeabilización de la mitocondria. Los lisosomas de los macrófagos participan en la proteólisis de los cuerpos apoptóticos fagocitados.

Las ideas actuales sobre el control de la apoptosis en respuesta al estrés se centran en el papel de los diferentes orgánulos, que independientemente pueden disparar respuestas para reparar las lesiones ocasionadas y, cuando éstas son irreparables, pueden actuar conjuntamente para desencadenar, en última instancia, la ruta central ejecutora con la activación final de la caspasa-3.

3.3. Patologías asociadas a alteraciones de la apoptosis

La lista de patologías asociadas a la apoptosis es muy grande, por lo que queda fuera del ámbito de este texto. No obstante, parece conveniente citar, al menos, a algunas de las de mayor prevalencia, como distintas enfermedades infecciosas, cáncer, enfermedades neurodegenerativas y aterosclerosis.

Las células infectadas por virus exponen restos de las proteínas del virus para que sean reconocidas por los linfocitos T citotóxicos (CTL) a través del complejo principal de histocompatibilidad. La unión de CTL a la célula reconocida se refuerza por la interacción del receptor CD95 o Fas a su ligando FASL expuesto en la superficie de los CTL, iniciándose la ruta extrínseca de la apoptosis. Además, como consecuencia de la interacción, los linfocitos liberan perforina, que es una proteína que crea poros en las membranas y permite la entrada de granzimas en las células reconocidas. Las granzimas son serina proteasas que activan a las caspasas **(Figura 21)**.

Este mecanismo general de lucha contra las infecciones trata de ser eludido por distintos virus para evitar la muerte de las células transformadas y favorecer su diseminación. Un mecanismo utilizado por uno de los virus del papiloma humano es la producción de la proteína E6 que se une a p53 y lo inactiva, impidiendo su efecto proapoptótico. El virus Epstein-Barr, que causa mononucleosis y es responsable del linfoma de Burkitt, codifica a una proteína semejante a Bcl-2 y a un factor de transcripción que induce la expresión de la proteína Bcl-2 celular, haciendo a las células infectadas mucho más resistentes frente a los estímulos apoptóticos.

En algunos tipos de cáncer, incluso en aquéllos no inducidos por virus, se siguen estrategias similares para favorecer la proliferación y evitar la apoptosis. En algunas leucemias de las células B y linfomas, el gen *Bcl-2* sufre una translocación y se sitúa junto a un potenciador de la transcripción en una región de alta expresión de inmunoglobulinas. Este cambio en la posición del gen hace que se expresen niveles muy altos de Bcl-2 con el consiguiente efecto antiapoptótico. En los melanomas, se evita la apoptosis inhibiendo la expresión

del gen que codifica a la proteína adaptadora APAF-1.

El virus del sida es paradójico ya que, al contrario de los casos referenciados, induce la muerte de las células T $CD4^+$, incluso de aquéllas no infectadas. Estas células son imprescindibles para que el organismo desarrolle respuestas inmunes adecuadas, por lo que, cuando disminuye su número, el organismo se vuelve sensible a múltiples infecciones. Debido a que todas las células T expresan Fas en su superficie, son sensibles a la inducción de la apoptosis por FasL. Las células infectadas, a través de una proteína del virus (Nef) inducen la expresión de FasL en su superficie. Cuando una célula T infectada encuentra a otra, aunque no esté infectada, se producen interacciones entre las proteínas CD4 de sus superficies, y la proteína FasL de la célula infectada activa la ruta extrínseca de la apoptosis en la célula encontrada.

Éste es el mismo mecanismo por el que células de la cámara anterior del ojo y de los testículos constituyen sitios inmunológicamente privilegiados, ya que sus antígenos no desencadenan respuestas. Estas células expresan constitutivamente altas concentraciones de FasL, por lo que las células T que entran en estos sitios mueren debido a la activación de su receptor Fas. Estos descubrimientos han planteado nuevos enfoques, actualmente en experimentación, para evitar el rechazo de transplantes. Si algunas de las células de los tejidos u órganos transplantados se indujeran para producir altos niveles de FasL, se evitaría el rechazo del transplante y la necesidad de la medicación con inmunosupresores. Algunos tipos de tumores utilizan también este mecanismo para evitar la muerte inducida por los CTL.

Dos enfermedades neurodegenerativas importantes están claramente relacionadas con la inducción de la apoptosis. La enfermedad de Huntington es una enfermedad genética en la que se producen mutaciones en el gen que codifica a la huntingtina. Esta proteína está implicada en la producción de un factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) que incrementa la resistencia de las neuronas a diferentes tipos de estrés, incluido el oxidativo. La mutación consiste en la excesiva repetición de tripletes CAG, que pueden alcanzar el valor de 100. Estos tripletes codifican a la glutamina, por lo que los enfermos sintetizan una proteína con largas secuencias de poliglutamina. Se ha demostrado que la poliglutamina activa a la procaspasa-8 y, por tanto, induce muerte celular. Recientemente se ha implicado el procesamiento dependiente de caspasas del precursor de la proteína amiloide en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer.

La lipofuscina es un pigmento que se deposita fundamentalmente en el músculo y en la piel generando manchas características del envejecimiento. Un componente de la lipofuscina contenido en los lisosomas de las células epiteliales de la retina produce la liberación de citocromo *c* desde las mitocondrias. Se ha relacionado este hecho con la degeneración macular durante la vejez.

Las células endoteliales son muy susceptibles al estrés oxidativo (*ver Capítulo 1.19*), debido a que los componentes lipídicos de la sangre se oxidan y provocan la generación de diversos radicales libres, estando implicados en el desarrollo de la aterosclerosis. La apoptosis inducida por este tipo de estrés genera la disrupción de la barrera endotelial. Se ha demostrado que la deficiencia en zinc exacerba los efectos apoptóticos de ácidos grasos como el linoleico. El mecanismo principal por el que el zinc protege de la apoptosis al endotelio durante situaciones inflamatorias parece deberse a su capacidad para inhibir la transducción de señales que lleva a la activación de las caspasas.

La muerte de las células endoteliales también puede producirse en respuesta a una infección bacteriana. Los neutrófilos activados producen radicales libres como el superóxido para matar a las bacterias. Estas especies reactivas de oxígeno pueden atacar también a las células endoteliales a lo largo de los vasos sanguíneos y producir apoptosis. La superóxido dismutasa convierte el superóxido en peróxidos. Dentro de las células, los peróxidos pueden ser convertidos en radicales hidroxilo en presencia de hierro. Tanto los peróxidos como los radicales hidroxilo activan a NF-κB e inducen la expresión de moléculas de adhesión como TNF e interleukina-8, que pueden ser el desencadenante de la apoptosis.

Entre otros factores inhibidores de la apoptosis de las células endoteliales, se puede mencionar al óxido nítrico, que actúa en muchos tejidos regulando distintos procesos biológicos como la inflamación, la vasodilatación y la respuesta inmune. Se ha demostrado también su efecto antiapoptótico en otros tipos celulares como los hepatocitos y los leucocitos. Sus efectos están mediados por la nitrosilación e inactivación de muchas caspasas, como la

Tabla 3. INTERPRETACIÓN DE LAS SIGLAS DE DIFERENTES PROTEÍNAS Y COMPLEJOS PROTEICOS MENCIONADOS EN ESTE CAPÍTULO

Siglas	Significado
AIF	Factor inductor de apoptosis
APAF	Factor activador de proteasas en la apoptosis
APC	Complejo promotor de la anafase
ATM	Ataxia telangiectasia mutada
Bcl-2	Proteína implicada en linfoma de células-B
CAD	DNAasa activada por caspasas
CAK	Kinasa activadora de CDK
CARD	Dominio para la activación de caspasas por reclutamiento
CDK	Kinasa dependiente de ciclina
CDKI	Proteína inhibidora de CDK
DED	Dominio efector de muerte
DIABLO	Proteína de unión directa a IAP con bajo punto isoeléctrico
DISC	Complejo señalizador inductor de muerte
FADD	Dominio de muerte asociado a FAS
FLICE	FADD-*like* ICE
FLIP	Proteína inhibidora semejante a FLICE
GADD	Detención del crecimiento por daños en el DNA
HSP	Proteína de choque térmico o de estrés
IAP	Inhibidor de apoptosis
ICAD	Proteína inhibidora de CAD
ICE	Enzima convertidora de interleukina
Mcm	Proteínas de mantenimiento de los minicromosomas
ORC	Complejo de reconocimiento del origen de replicación
PARP	Poli-ADP-ribosa polimerasa
PCNA	Antígeno nuclear de células en proliferación
Rb	Retinoblastoma
SCF	Complejo proteico formado por Skp-1, Cul-1 y F-box
TNF	Factor de necrosis tumoral
TNFR	Receptor de TNF
TRADD	Dominio de muerte asociado al receptor de TNF
TRAIL	Apoptosis inducida por ligando relacionada con TNF

caspasa-1, la caspasa-3 y la caspasa-8. Otros efectos demostrados son la activación de la proteína de choque térmico HSP-70, por el que también puede participar en la inhibición de la apoptosis. La interacción del óxido nítrico con el grupo hemo de la guanilato ciclasa la activa y se produce la formación de cGMP, activándose diversas proteína kinasas dependientes de cGMP que inducen la expresión de varias proteínas antiapoptóticas. Así, se induce la expresión de Bcl-2 y Bcl-X_L que, a su vez, impiden la salida de citocromo *c* al citosol y disminuyen la posibilidad de la muerte por apoptosis.

En la **Tabla 3** se recoge un listado con la definición de las siglas empleadas en este Capítulo.

4. Resumen

- Los organismos pluricelulares regulan el número de células constituyentes de sus tejidos y estructuras por dos procesos opuestos, proliferación y apoptosis. Ambos están perfectamente controlados por mecanismos moleculares que aún no se conocen en su totalidad.

- La proliferación se desarrolla continuamente en un proceso conocido como ciclo celular, en el que una célula se divide para dar lugar a dos células hijas idénticas a la progenitora. En las células proliferativas se alternan la fase S o de síntesis de DNA, en la que se duplica el material genético, y la fase M o mitosis, en la que los cromosomas duplicados y el material citoplasmático se reparten equitativamente entre las dos células hijas. Entre las dos fases S y M existen periodos de tiempo en los que la célula se prepara para su realización, conocidos como fases G_1 y G_2, respectivamente.

- La progresión en el ciclo celular está controlada por un conjunto de proteína kinasas conocidas como CDK, cuya actividad depende de numerosos factores, siendo el más importante e imprescindible su asociación a otras proteínas llamadas ciclinas, cuya concentración varía a lo largo del ciclo. Las ciclinas se sintetizan cuando los genes codificantes son inducidos, y se degradan de forma muy rápida en los proteasomas cuando son marcadas con ubiquitina. La formación de los complejos CDK-ciclina no es suficiente para que las CDK se activen, sino que, además, se requiere la fosforilación de determinados restos de aminoácidos para que su centro activo pueda reconocer apropiadamente a sus sustratos. La fosforilación de otros restos diferentes produce su inhibición. Por tanto, la adecuada actividad de las CDK viene determinada por diferentes cascadas de señalización en las que intervienen otras proteína kinasas y diferentes proteína fosfatasas, así como por la concentración óptima de ciclinas que se regula por su expresión génica y por degradación proteolítica controlada.

- Las CDK activas fosforilan a una variedad de sustratos, muchos de ellos factores de transcripción que inducen la síntesis de las proteínas necesarias para la progresión en el ciclo. Existen numerosos controles positivos que permiten la actividad de las CDK, y otros negativos que las inactivan transitoriamente cuando no se dan las condiciones óptimas para la progresión en el ciclo celular o no se ha completado alguna de las etapas previas requeridas.

- La apoptosis, por el contrario, determina la muerte de las células no necesarias para los tejidos y permite modelar las estructuras con su forma adecuada. Se produce por una ruta conocida como ruta extrínseca en un proceso dependiente de receptores que, al unirse a sus ligandos, desencadenan una cascada proteolítica que lleva a la activación de las caspasas, proteasas que romperán por hidrólisis a una serie de proteínas clave para la subsistencia celular. Las células degradan su material genético y sufren cambios en el citoplasma y en la membrana que facilitan su fagocitosis por los macrófagos, sin que se produzcan reacciones inflamatorias.

- Las células que sufren alteraciones en su genoma o en sus estructuras subcelulares como consecuencia de distintos tipos de estrés constituyen un peligro potencial para la integridad del organismo, por lo que también deben ser eliminadas. Su muerte se desarrolla por necrosis cuando los daños son muy graves o extensos y por apoptosis en los casos menos severos. En esta situación, los daños en el DNA son los principales inductores de la apoptosis por una ruta diferente, ruta intrínseca, en la que juega un papel determinante la proteína p53 y la salida de citocromo *c* desde las mitocondrias al citosol. La ruta intrínseca coincide con la extrínseca en la activación de las caspasas y en las etapas finales de la ejecución de la muerte.

- Proliferación y apoptosis son procesos íntimamente ligados a muchas enfermedades. Un exceso en las vías proliferativas o un defecto en la apoptosis puede desembocar en la aparición de tumores. En el control del desarrollo del cáncer hay que destacar a la proteína p53, que une su capacidad antioncogénica, bloqueando la progresión del ciclo celular, con su papel inductor de la apoptosis. Otras muchas enfermedades se producen por alteraciones en estos procesos fundamentales, entre ellas algunas neurodegenerativas. Finalmente, el control eficaz de las infecciones víricas y de algunas bacterianas se produce induciendo la muerte celular de las células infectadas para evitar la diseminación de los agentes infecciosos.

5. Bibliografía

Abbas AK, Lichtman AH. Inmunología celular y molecular, 5ª ed. Ediciones Harcourt. Madrid, 2003.
Se trata de un libro clásico de inmunología donde se pueden estudiar los aspectos relacionados con el reconocimiento célula-célula y los mecanismos inductores de la apoptosis y fagocitosis de células infectadas.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell, 4ª ed. Garland Science. New York, 2002.
Es un libro básico para entender los procesos celulares a nivel molecular. Desde su primera edición en 1983 siempre ha sido un libro que ha destacado por su magnífica presentación y la actualidad y profundidad de sus contenidos.

Krauss G. Biochemistry of Signal Transduction and Regulation, 3ª ed. Wiley-VCH. Weinheim, 2003.
Es una nueva edición revisada de este texto clásico. El libro describe las bases moleculares de la transducción de señales, regulación de la expresión génica, ciclo celular, tumorigénesis y apoptosis.

Mckee T, Mckee J. Bioquímica. La base molecular de la vida, 3ª ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, 2003.
Un libro de Bioquímica y Biología molecular muy moderno y con magníficas ilustraciones.

Medina JM, Sánchez de Medina F, Vargas AM. Bioquímica, 2ª ed. Síntesis. Madrid, 2003.
Manual básico de Bioquímica que incluye referencias a los aspectos esenciales del ciclo celular, de la apoptosis y de los procesos moleculares relacionados.

Meyers RA. Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine, 2nd ed. Wiley-VCH. Verlag, 2003.
Se trata de una enciclopedia de 16 volúmenes que cubre todos los aspectos de la Biología celular y molecular, así como de la medicina molecular, con multitud de referencias cruzadas.

Stryer L, Berg JM, Tymoczko JL. Bioquímica 5ª ed. Reverté. Barcelona, 2003.
Es un texto clásico de bioquímica que trata con mucho rigor el estudio del metabolismo y de los grandes temas de la biología molecular y celular.

Zempleni J, Daniel H. Molecular Nutrition. Culinary and Hospitality Industry Publications Services (CHIPS). Weimar, Texas, 2003.
Libro que describe aspectos esenciales sobre la nutrición molecular y aporta datos actuales sobre cómo los nutrientes pueden influir en procesos como la reparación del DNA, la proliferación y la apoptosis.

6. Enlaces web

- www.bio.davidson.edu/courses/movies.html
- www.expasy.ch/swissmod/SWISS-MODEL.html
- users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages
- www.ebi.ac.uk
- www.biocarta.com/genes/index.asp
- www.cellsignal.com

1.33. Regulación del crecimiento, diferenciación y desarrollo

Manuel Hernández Rodríguez ■ Jesús Argente Oliver

Capítulo 1.33.

Regulación del crecimiento, diferenciación y desarrollo

1. Introducción

2. Modelos básicos de crecimiento

3. El patrón de crecimiento humano

3.1. Morfología de la curva de crecimiento

3.2. Modelos matemáticos para representar la curva de crecimiento

3.3. Crecimiento diferencial de los distintos órganos y segmentos corporales

3.3.1. Crecimiento y maduración ósea

4. Crecimiento en los distintos periodos de la infancia

4.1. Crecimiento en el periodo prenatal

4.2. Diferenciación y morfogénesis

4.3. Crecimiento posnatal

4.3.1. Primera infancia

4.3.2. Periodo de crecimiento estable

4.3.3. Pubertad y adolescencia

5. Factores que condicionan y regulan el crecimiento

5.1. Factores determinantes

5.2. Factores permisivos

5.2.1. Nutrición

5.2.2. Factores psicosociales

5.2.3. Otros factores permisivos

5.3. Factores reguladores

5.3.1. Hormonas

5.3.2. Factores locales de crecimiento

5.4. Factores realizadores

6. Bases moleculares del hipocrecimiento armónico

6.1. Deficiencias genéticas de la hormona de crecimiento (GH)

6.1.1. Deficiencia aislada de GH (DAGH)

6.1.2. Deficiencia combinada de hormonas hipofisarias (DCHH)

6.2. Alteraciones embriológicas y deficiencia de GH

6.2.1. Holoprosencefalia

6.2.2. Síndrome de Rieger

6.2.3. Displasia septoóptica o síndrome de Morsier

6.2.4. Síndrome de ectrodactilia-displasia ectodérmica-labio leporino
6.2.5. Anemia de Fanconi
6.2.6. Síndrome de Bloom
6.2.7. Síndrome de Aarskog (displasia faciogenital)
6.3. Resistencia a la acción de la hormona de crecimiento (GH)
6.3.1. Forma clásica de resistencia a GH del tipo I
6.3.2. Anomalías posreceptor de GH
6.3.3. Anomalías en el gen de *IGF-I*
6.3.4. Anomalías en el gen de *IGFALS*
6.3.5. Anomalías en el gen del *receptor de IGF-I*
6.3.6. Pigmeos
6.4. Anomalías de los cromosomas sexuales
6.5. Otras causas de origen prenatal

7. Cambios evolutivos en el patrón de crecimiento
7.1. Evolución de la talla humana y tendencia secular
7.2. Características de la tendencia o cambio secular
7.3. Interpretación de los cambios en el patrón de desarrollo

8. Resumen

9. Bibliografía

10. Enlaces web

Objetivos

- Conocer los modelos básicos del crecimiento.
- Establecer las bases del patrón de crecimiento humano en los diferentes periodos de la vida.
- Describir los factores que condicionan y regulan el crecimiento.
- Analizar las bases moleculares del hipocrecimiento armónico.
- Exponer los diferentes tipos de deficiencia aislada de hormona de crecimiento y de deficiencia combinada de hormonas hipofisarias.
- Identificar las alteraciones embriológicas asociadas con deficiencia en hormona de crecimiento.
- Determinar los genes implicados en el cuadro clínico de resistencia a la acción de la hormona de crecimiento.
- Investigar los genes implicados en la deficiencia del factor de crecimiento semejante a la insulina número I (IGF-I).
- Describir los genes involucrados en el crecimiento humano localizados en los gonosomas.
- Esquematizar los cambios evolutivos en el patrón de crecimiento humano, prestando especial atención al análisis de las características de la tendencia secular.

1. Introducción

El crecimiento es un fenómeno biológico que consiste en el aumento de la masa corporal debido al incremento del número de células, del tamaño celular y a la incorporación de nuevas moléculas al espacio extracelular.

Desarrollo es el progreso del grado de organización y complejidad de las estructuras orgánicas, que condiciona una creciente maduración funcional.

El nivel de desarrollo alcanzado en un momento dado se denomina habitualmente maduración.

De acuerdo con estos conceptos, al hablar de crecimiento se hace referencia a un fenómeno cuantitativo que puede expresarse matemáticamente por una relación simple de incremento de la masa en función del tiempo, mientras que el desarrollo es un fenómeno cualitativo, que acompaña, pero no marcha al mismo ritmo que el proceso de crecimiento, con el que incluso en ocasiones muestra un cierto antagonismo.

Según el nivel en el que se examine, la expresión del crecimiento será distinta. En efecto, macroscópicamente, considerando el organismo en su conjunto, se manifiesta por un aumento de tamaño y un cambio de forma. Histológicamente, su expresión es un aumento del número y tamaño de las células y del volumen de las sustancias extracelulares. Bioquímicamente, el crecimiento consiste en la síntesis de compuestos complejos: proteínas, hidratos de carbono, lípidos, ácidos nucleicos, o más simples: moléculas de bajo peso molecular y estructuras cristalinas. Finalmente, desde el punto de vista físico, y más concretamente bioenergético, el crecimiento presupone un aporte continuo de la energía necesaria para los procesos endorgónicos de síntesis y depósito de macromoléculas a partir de moléculas más sencillas.

El crecimiento es, pues, en última instancia, un fenómeno fisicoquímico; lo que le define y separa claramente de cualquier otro aumento de masa es que se realiza de una manera armónica, de acuerdo con un plan preestablecido que permite a la célula inicial o cigoto transformarse progresivamente en una blástula, un embrión, un feto, un niño y, finalmente, en un adulto. Para que ello sea posible, el simple aumento de volumen se acompaña de otros dos procesos del máximo interés: diferenciación y morfogénesis.

2. Modelos básicos de crecimiento

En los organismos unicelulares, como las bacterias y algunos protozoos, el crecimiento se basa exclusivamente en la multiplicación celular que da origen a colonias o agrupaciones de individuos idénticos morfológica y funcionalmente. La característica esencial de este tipo de crecimiento es que carece de un verdadero sistema de regulación. Mientras las condiciones de temperatura, osmolaridad, equilibrio iónico y el aporte de nutrientes sean adecuadas, las células se dividen una y otra vez y el crecimiento sigue una curva exponencial.

En los seres pluricelulares más primitivos, en el proceso de regeneración de los tejidos y en las fases iniciales del desarrollo embrionario de los organismos superiores existe un sistema muy elemental que regula la proliferación celular.

Por una parte, hay factores mecánicos que modulan el tamaño y la forma de las células y, por otra, aparece ya un esbozo de regulación humoral, dependiente del equilibrio en el medio extracelular entre factores estimulantes del crecimiento, denominados genéricamente auxinas o mitógenos, y factores inhibidores.

En los organismos pluricelulares más evolucionados, entre los que se encuentra el hombre, pasadas las etapas iniciales del desarrollo embrionario, el crecimiento es un proceso más elaborado, y hay un sistema mucho más complejo de control y regulación, ya que al sistema integrado por los factores locales, estimuladores e inhibidores del crecimiento, se superpone un mecanismo endocrino o sistémico, basado en la síntesis y liberación de hormonas que actúan a distancia del lugar donde se originan.

El aumento de tamaño no se debe ya exclusivamente a la multiplicación celular, sino que la hiperplasia o aumento del número de células, se acompaña de hipertrofia celular y de la incorporación de nuevas moléculas al espacio extracelular.

Además, junto al simple aumento volumétrico, los procesos de diferenciación y morfogénesis van a desempeñar una función muy importante en la regulación del tamaño y forma finales del individuo.

3. El patrón de crecimiento humano

3.1. Morfología de la curva de crecimiento

La curva que representa el crecimiento en la especie humana tiene una forma caracterizada por dos periodos de crecimiento rápido, con sus fases de aceleración y desaceleración, separados por un periodo de crecimiento estable. El primero de estos ciclos de crecimiento acelerado corresponde al periodo fetal y los primeros meses de vida extrauterina, y el segundo al estirón de la pubertad. Entre ambos, a la edad de 7 años, se observa un incremento ligero de la velocidad, que afecta preferentemente a los miembros y coincide con la adrenarquia **(Figura 1a)**.

Este perfil es característico de los primates y difiere del de los restantes mamíferos **(Figuras 1a, 1b y 1c)**. Está presente ya en las especies de menor tamaño, pero se asemeja más a la curva humana en los antropoides más evolucionados como el chimpancé **(Figura 1b)**, en el cual el intervalo entre el nacimiento y la pubertad es de 7 a 8 años y el estirón puberal muestra ya el característico dimorfismo sexual, con un brote de crecimiento más precoz y menos intenso en las hembras y más tardío y amplio en los machos.

3.2. Modelos matemáticos para representar la curva de crecimiento

Se han hecho múltiples intentos para encontrar curvas o funciones matemáticas que se ajusten y representen los datos del crecimiento de la talla y de otras variables antropométricas. El objetivo fundamental es extraer la máxima información posible de las distintas medidas, analizar algunos hechos importantes como el brote de crecimiento puberal o investigar el efecto de algunas circunstancias (enfermedades, desnutrición, tratamientos farmacológicos) sobre el crecimiento, ya que éstos sólo tienen validez cuando se comparan con la curva teórica del sujeto.

La dificultad radica en que el patrón de crecimiento es tan complejo que no resulta fácil encontrar una función relativamente simple, con pocas

constantes, que permita interpretar con un criterio biológico los datos antropométricos. En muchas ocasiones, éstos no se ajustan a la curva o ésta contiene tal cantidad de parámetros que resulta imposible interpretarla desde una perspectiva fisiológica o clínica.

Dentro de los numerosos modelos propuestos hay dos grandes tendencias o formas de abordar el problema. En una de ellas, denominada **no estructural**, lo que se hace es describir los datos observados realizando una "suavización" de la curva, para reducir o suprimir los errores de las medidas y las variaciones derivadas de exámenes muy próximos en el tiempo. Es el método utilizado por Largo *et al.* para construir las curvas de velocidad, así como por otros autores y por nosotros para obtener los estándares o curvas de referencia.

El método **estructural** utiliza funciones matemáticas predeterminadas a las que se ajustan los datos mediante métodos estadísticos apropiados. Las más conocidas entre éstas son las de Bock y Thissen, Preece y Baines, y Jolicoeur *et al.* Sus ventajas e inconvenientes, así como las bases metodológicas, han sido discutidas por Bock y Thissen, Preece y Healy. La principal objeción que se puede hacer a todos estos modelos es que no cubren en su totalidad el periodo de crecimiento y, sobre todo, que son simplemente descriptivos y olvidan la correlación de la curva con los factores biológicos responsables del crecimiento en los distintos periodos de la vida.

En 1989, Karlberg propuso un nuevo modelo, el modelo ICP *(**I**nfancy, **C**hildhood, **P**uberty)*, que intenta obviar estas limitaciones. En él se considera que la curva de crecimiento en su conjunto representa el efecto aditivo de varias fases biológicas y puede descomponerse en tres componentes: un componente fetal y de la primera infancia, un componente prepuberal o de la segunda infancia y el componente puberal **(Figuras 2a y 2b)**.

El componente fetal y de la primera infancia se inicia en la segunda mitad de la gestación y se extiende hasta la edad de tres años. Está representado por una función exponencial:

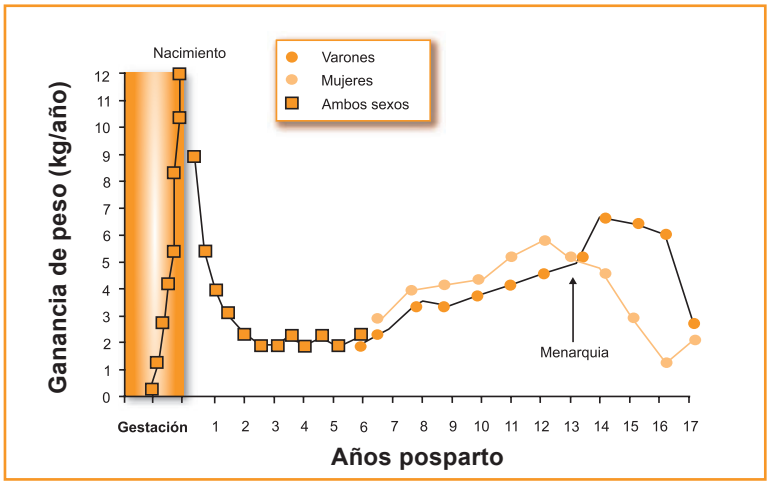


Figura 1a. *Curva de ganancia ponderal en el ser humano, caracterizada por una fase única de aceleración que se inicia en la etapa intrauterina y termina en la pubertad.*

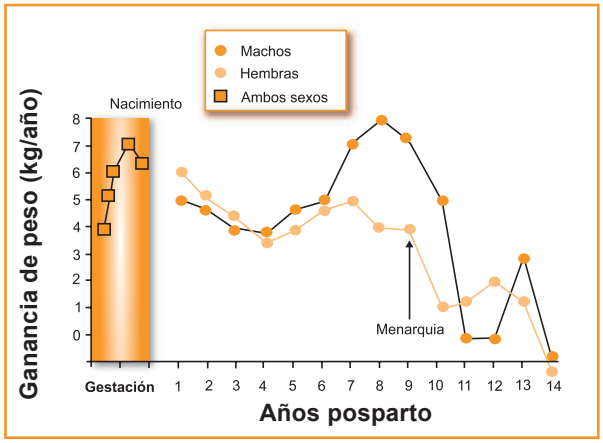


Figura 1b. *Curva de ganancia ponderal en el chimpancé.*

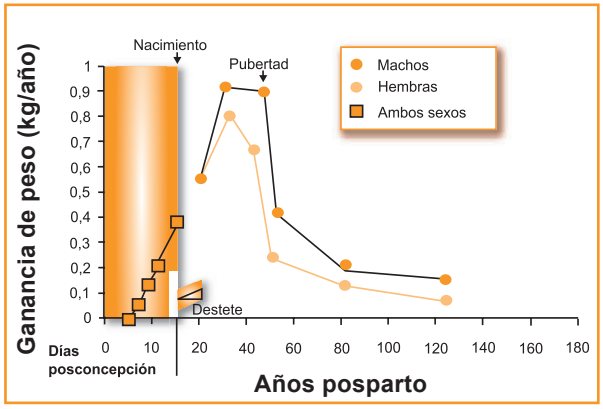


Figura 1c. *Curva de ganancia ponderal en el ratón. Son evidentes los dos periodos de crecimiento rápido y el dimorfismo sexual, con un pico de crecimiento puberal más precoz y de menor amplitud en la hembra, y más tardío e intenso en el macho (Tanner JM).*

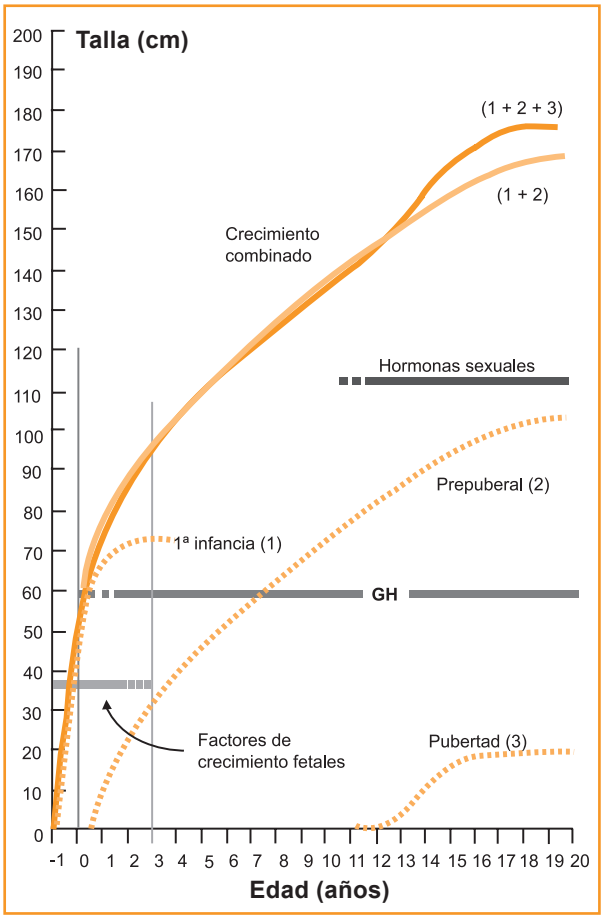


Figura 2a. *Modelo de los tres componentes:* **I**nfancy, **C**hildhood, **P**uberty *(ICP). Curva de altura alcanzada (Karlberg J).*

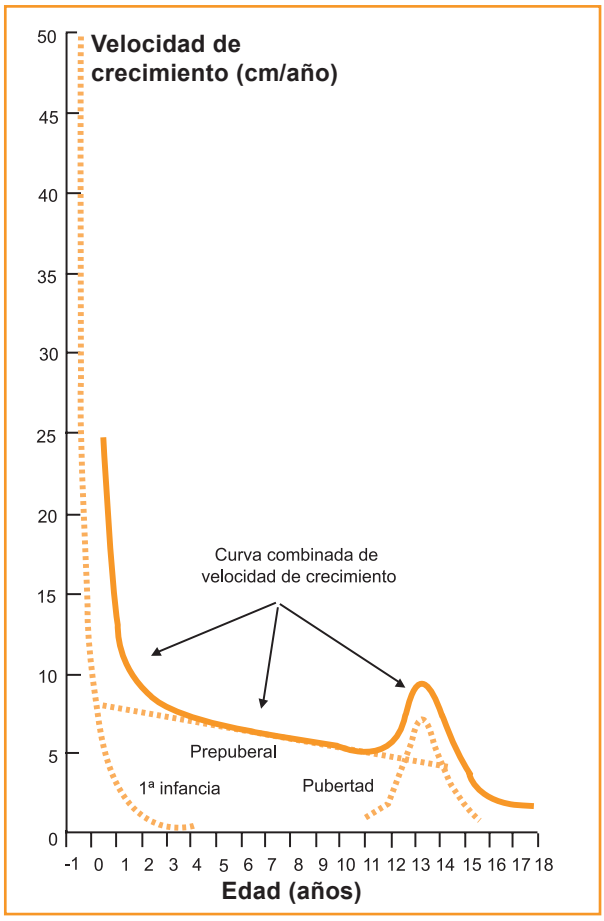


Figura 2b. *Modelo de los tres componentes:* **I**nfancy, **C**hildhood, **P**uberty *(ICP). Curva de velocidad (Karlberg J).*

$$y = a + b\,[1 - \exp(-ct)]$$

y regulado, fundamentalmente, por el flujo de sustratos energéticos y nutrientes esenciales. No es dependiente de hormona del crecimiento (GH) y los factores hormonales que intervienen en su regulación son la insulina y los factores tisulares de crecimiento (IGF-I, IGF-II, EGF, NGF, entre otros).

El componente de la segunda infancia o prepuberal se inicia hacia el final del primer año y se extiende hasta que termina el periodo de crecimiento. El modelo matemático para este componente es una función polinomial de segundo grado:

$$y = a + bt + ct^2$$

Hasta los 3 años, el crecimiento es producto de la combinación de estos dos componentes; la iniciación de este segundo componente se expresa por un incremento de la velocidad de crecimiento que se observa habitualmente entre el sexto y el duodécimo mes; si no se ha producido al final del primer año es sugestivo de deficiencia o secreción insuficiente de GH, que a partir de ese momento es ya el factor fundamental en la regulación del crecimiento.

El componente final, correspondiente a la pubertad, se ajusta a una función logística:

$$y = a/\{1 + \exp[-b\,(t - t_v)]\}$$

y depende del efecto aditivo de la hormona de crecimiento y los esteroides sexuales que, además de una acción anabólica directa, tienen un efecto modulador sobre la secreción de hormona de crecimiento.

Igual que los restantes métodos que intentan ajustar el crecimiento a una o varias funciones matemáticas, éste es discutible, ya que es prácticamente imposible que ninguno de ellos pueda expresar con precisión todos los accidentes que se observan en la curva de crecimiento, como, por ejemplo, la inflexión que se produce en las últimas semanas de la gestación, el proceso de canalización de los primeros meses de vida o el brote de crecimiento de la adrenarquia. Esto sólo puede lograrse con fórmulas extraordinariamente complejas, que tienen que introducir un número elevado de parámetros o exigen el conocimiento previo de datos como el momento del pico de crecimiento máximo o la altura máxima alcanzable.

La aportación más importante del modelo de Karlberg es que correlaciona las características y morfología de la curva con los procesos que se están produciendo y los factores de crecimiento que actúan en los distintos periodos y, teóricamente, permite detectar precozmente la alteración de uno de estos factores a través de la ausencia o retraso del componente de la curva dependiente de él. En principio, este modelo, que fue estandarizado en una población de 212 niños sanos del estudio longitudinal de crecimiento sueco, ha sido probado en poblaciones de niños afectos de distintas alteraciones de crecimiento. Los resultados iniciales confirman la validez del método, pero son necesarios estudios más amplios, realizados por grupos de investigadores distintos, para conocer con más precisión su utilidad y las posibles limitaciones.

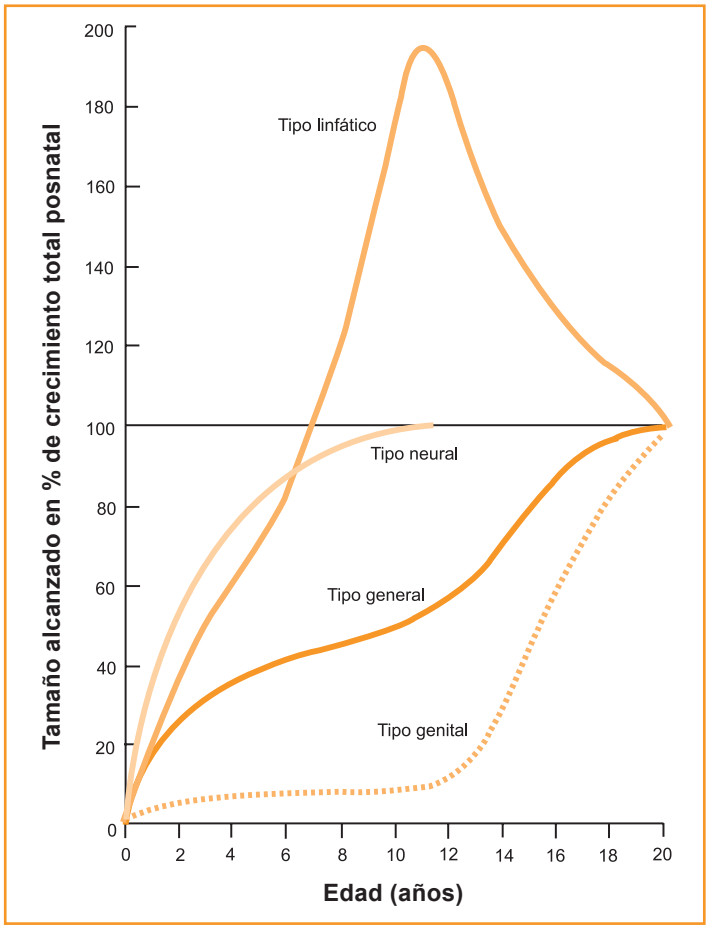


Figura 3. *Curvas de crecimiento seguidas por los principales órganos.*

3.3. Crecimiento diferencial de los distintos órganos y segmentos corporales

Esta curva, denominada por Scammon "tipo general", es la que sigue el organismo en su conjunto e individualmente los órganos respiratorios y digestivos, los riñones, el bazo, la musculatura y el sistema óseo **(Figura 3)**. Sin embargo, existen al menos otros tres patrones o curvas de crecimiento características de diferentes órganos o tejidos, a las cuales hay que añadir otra cuarta para el panículo adiposo subcutáneo **(Figura 4)**.

El tipo genital, que es propio del testículo, epidídimo, trompa, útero, próstata y vesículas seminales, muestra un mínimo incremento durante el primer año y durante el resto de la infancia, seguido de un rápido crecimiento al llegar a la pubertad **(Figura 3)**.

En claro contraste con éste, el tipo de crecimiento neural, seguido por el cerebro, las meninges y la cavidad craneal, se caracteriza por un crecimiento rápido durante los 4 primeros años y muy lento posteriormente, hasta el punto de que el crecimiento de los 6 a los 20 años únicamente representa el 10% del incremento total desde el nacimiento a la edad adulta **(Figura 3)**.

El tipo de crecimiento linfoide, propio del timo y de los órganos linfoides, es completamente distinto de los anteriores, ya que alcanza un máximo muy su-

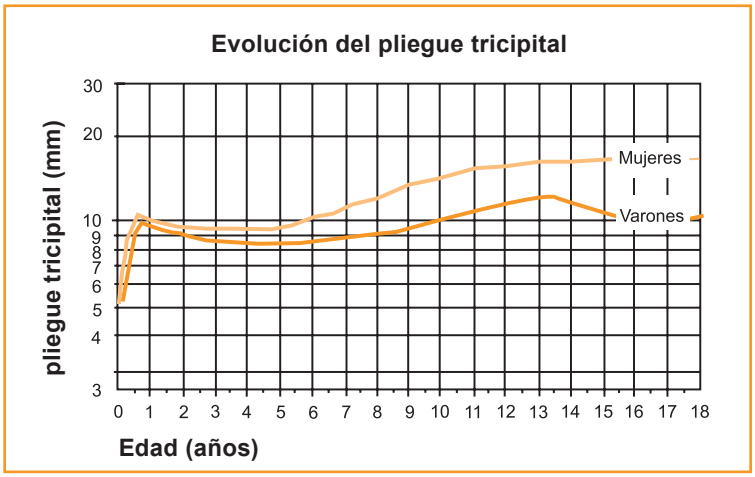


Figura 4. *Evolución del panículo adiposo, estimado a través del percentil 50 del pliegue cutáneo del tríceps (Hernández M* et al.*).*

perior al volumen final hacia los 10 o 12 años, sufriendo posteriormente una regresión parcial **(Figura 3)**.

El tejido adiposo sigue una curva caracterizada por un crecimiento rápido hasta los 9 meses, momento en el que comienza a disminuir para sufrir un nuevo crecimiento durante la edad escolar. Después de la pubertad, en los niños disminuye de nuevo, pero en las niñas continúa aumentando **(Figura 4)**.

Estas diferencias entre las tasas de crecimiento de diferentes órganos y tejidos en las distintas fases de desarrollo se reflejan en las cambiantes proporciones del cuerpo a lo largo de la infancia. En el feto hay un desarrollo predominante del polo craneal y, por eso, en el recién nacido la altura de la cabeza es aproximadamente la cuarta parte de la talla y el segmento inferior es proporcionalmente más corto. Durante la etapa prepuberal predomina el crecimiento de los miembros inferiores, mientras que en la pubertad el tronco crece más deprisa que las extremidades. Éstas alcanzan su pico de crecimiento puberal 8 o 10 meses antes que el tronco y su crecimiento durante este periodo es menor; además, la columna vertebral crece aproximadamente 2 cm después de la fusión de las epífisis, lo que contribuye al remodelamiento definitivo del organismo.

3.3.1. Crecimiento y maduración ósea

El crecimiento del esqueleto sigue la curva general pero merece que se le dedique un apartado especial porque, además del crecimiento en longitud, el sistema óseo sufre un proceso madurativo que coincide cronológicamente con el aumento de tamaño de los huesos, pero es independiente de él y se rige por mecanismos reguladores distintos. Este proceso consiste, en esencia, en la transformación progresiva de las primitivas maquetas fibrosas o cartilaginosas en tejido calcificado. Su interés estriba en que la valoración de la maduración ósea, realizada con una técnica correcta, es el método más útil para enjuiciar el nivel de desarrollo alcanzado, y el conocimiento de este dato es fundamental para realizar la estimación de la talla final, para evaluar las posibilidades terapéuticas de un niño con patología del crecimiento y para controlar los efectos del tratamiento.

La maduración ósea se desarrolla en tres etapas; durante la primera, que tiene lugar en el periodo prenatal, se osifican las diáfisis, huesos planos, epífisis distal del fémur, epífisis proximal de la tibia, calcáneo, astrágalo y cuerpos vertebrales. En la etapa prepuberal se produce la osificación progresiva de los huesos del carpo y tarso y de las epífisis de los huesos largos. Finalmente, en la adolescencia, tiene lugar la fusión de las epífisis a través de la osificación de los cartílagos de crecimiento, lo que marca el final del crecimiento en longitud.

Para valorar la maduración ósea no sirven las medidas absolutas del tamaño de los huesos y hay que utilizar criterios morfológicos, los denominados por Todd indicadores de madurez, que son: "caracteres de los distintos huesos que se pueden reconocer en la radiografía y que por producirse de una manera regular y en un orden definido e irreversible señalan su progreso hacia la madurez".

Éstos pueden valorarse mediante dos procedimientos, cada uno de ellos con sus ventajas y limitaciones: el método del atlas y los métodos cuantitativos o numéricos. Para valorar la maduración ósea con el primero de estos métodos, se compara la radiografía problema con los estándares del atlas, que representan la maduración ósea promedio a distintas edades para cada uno de los sexos, y se le asigna la edad ósea que corresponda al modelo que más se asemeje o una edad intermedia entre los dos en que se encuentre si no se corresponde exactamente con ninguno de ellos. En los métodos numéricos o cuantitativos, mediante un

método matemático se asigna una puntuación a las distintas etapas evolutivas del hueso y, de esta forma, un fenómeno cualitativo, que se expresa por cambios morfológicos, se transforma en un dato numérico que puede ser analizado, igual que la talla o el peso, con métodos estadísticos, permitiendo conocer exactamente en qué percentil o desviación estándar se encuentra en relación con los valores de referencia.

El prototipo de los atlas es el atlas de Greulich y Pyle, y de los métodos numéricos el método de Tanner Whitehouse. El único inconveniente es que están realizados con muestras de poblaciones muy alejadas en el tiempo y en sus características de la población española actual.

Para obviar estos inconvenientes, nuestro grupo ha aportado un atlas, un método numérico basado en el TW2-RUS y un método original (método SHS) para valorar la maduración ósea en los dos primeros años de vida; tiene la ventaja de que los modelos de radiografías y los estándares corresponden a una muestra más representativa de la población actual de nuestro país.

4. Crecimiento en los distintos periodos de la infancia

Aunque el crecimiento es un proceso continuo, que se inicia con la reacción de fecundación en el óvulo y termina al final de la adolescencia, el ritmo o velocidad varía a lo largo de la infancia, y dentro de cada periodo no afecta por igual a cada órgano, lo que origina los distintos tipos o patrones de crecimiento representados en las **Figuras 3 y 4**.

Por otra parte, las modificaciones bioquímicas responsables de los cambios madurativos no marchan paralelas a los incrementos de masa, hasta el punto de que se puede hablar de periodos en los que predomina el aumento volumétrico y otros preferentemente madurativos.

4.1. Crecimiento en el periodo prenatal

A pesar de ser un intervalo cronológicamente tan corto, el periodo prenatal tiene una gran proyección en la biología y patología del crecimiento debido a la trascendencia biológica de lo que en él acontece: la transformación de una célula pluripotente e indiferenciada, el cigoto, en un organismo tan complejo como el recién nacido humano a través de los procesos de diferenciación y morfogénesis íntimamente unidos al aumento de masa.

4.2. Diferenciación y morfogénesis

La **diferenciación** constituye un elemento crucial de la biología del desarrollo, que consiste en la generación, a partir de una célula pluripotente e indiferenciada, de grupos de células especializadas, que se agrupan posteriormente para constituir tejidos y órganos que se rigen por grupos independientes de factores reguladores.

Puesto que en la mitosis cada célula hija recibe los mismos genes de su progenitora, la diferenciación, que conducirá a que del primitivo óvulo fecundado se originen células tan distintas, estructural y funcionalmente, como una neurona y una célula epitelial, no puede explicarse por una diferencia en el contenido genético, sino por alguna forma de activación diferencial de dichos genes.

Entre las hipótesis propuestas para explicarla, una de las que cuenta con mayor apoyo experimental es la que postula que existe una activación selectiva de zonas del DNA nuclear, bien en los genes reguladores, bien en los estructurales. Según los trabajos iniciales de Huang y Bonner, confirmados posteriormente por otros autores, el mecanismo de activación-inactivación del DNA, estaría relacionado con la forma en que éste se encontrara dentro de la cromatina nuclear. Cuando se encuentra fuertemente unido a las histonas formando nucleosomas y empaquetado en estructuras aún más compactas como los "solenoides", no es accesible a las moléculas reguladoras responsables de su activación. Solamente los genes codificados en segmentos de DNA libre, que se ha liberado de su combinación con las histonas y otras moléculas que lo "enmascaran", podrían expresarse y ser transcritos. Una de las características de estos segmentos es su sensibilidad a la acción de las nucleasas, concretamente a la DNAasa I, lo que se ha utilizado para demostrar la existencia de zonas de la cromatina con capacidad para expresar un determinado gen.

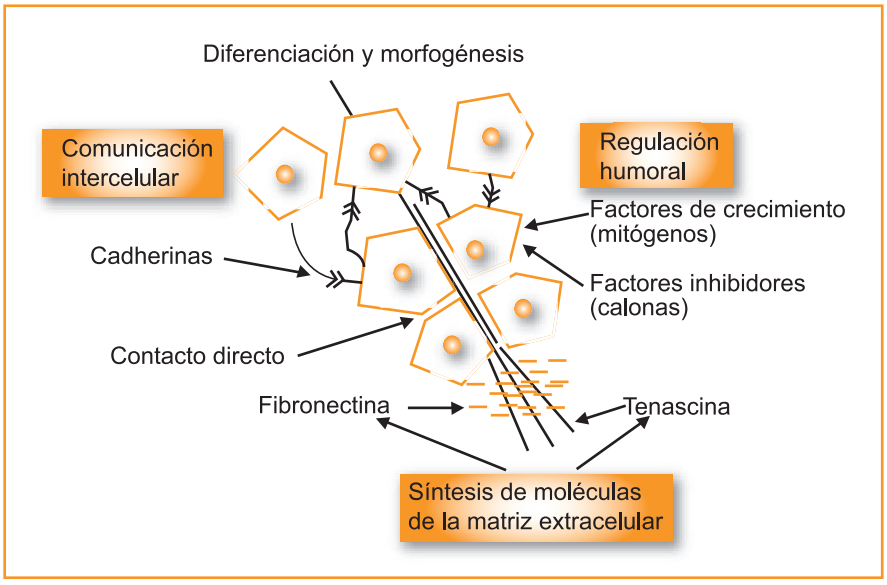


Figura 5. *Factores que regulan la morfogénesis y los procesos de regeneración en los tejidos: contacto directo entre las células, secreción de moléculas al espacio extracelular y regulación de la multiplicación celular a través de factores estimuladores e inhibidores.*

Las moléculas con capacidad para llevar a cabo esta activación son productos intracelulares o sustancias originadas fuera de la célula y transportadas al interior de ésta a través de la membrana celular. Actúan regulando la accesibilidad de los factores de trascripción a regiones específicas del DNA, y la unión de éstos al promotor de un determinado gen haría posible su expresión, es decir, la trascripción de la información al mRNA y su traducción posterior, de forma que en cada tejido cada célula sintetizará el producto apropiado en cada momento del desarrollo ontogénico.

Además de la acción directa sobre el gen estructural, facilitando su expresión, estos factores pueden actuar sobre los genes reguladores, sobre el mRNA, sobre los ribosomas o sobre la molécula proteica final, y lo más probable es que el proceso de síntesis enzimática, que constituye el primer paso de la diferenciación, sea regulado a través de varios de estos mecanismos, igual que sucede con la síntesis de proteínas en las células diferenciadas.

La activación diferencial y la expresión cronológicamente programada de diferentes genes permitirá a las células dirigir su propio metabolismo, sintetizar en cada momento aquellas moléculas que le son necesarias y adaptar su estructura progresivamente a la función que han de realizar: desarrollo del retículo endoplásmico en las células secretoras, mitocondrias más numerosas en las encargadas de realizar reacciones oxidativas, amplio desarrollo de los ribosomas en las que asumen funciones de síntesis proteica, entre otras.

La **morfogénesis** es el proceso de remodelación morfológica que sigue a la diferenciación y a través del cual se forman las hojas germinativas, se diferencian los órganos y se configura la forma definitiva del organismo. Se inicia con cambios estructurales en las células, secundarios a su diferenciación bioquímica y especialización funcional, seguidos de migración y agrupamiento celular, mitogénesis y apoptosis o muerte celular programada.

Los tres mecanismos fundamentales de la morfogénesis se representan esquemáticamente en la **Figura 5** y son los siguientes:

- Síntesis y deposición de moléculas en la matriz extracelular.
- Producción de moléculas de reconocimiento celular.
- Expresión de mensajeros intercelulares, entre ellos los factores peptídicos de crecimiento.

Las moléculas de la matriz extracelular determinan la dirección de la migración de las células embrionarias. Las dos mejor conocidas son la fibronectina y la tenascina; la primera constituye un sustrato para el crecimiento, mientras que la tenascina interviene preferentemente en la orientación de la migración celular **(Figura 5)**.

El segundo tipo de moléculas que intervienen decisivamente en la morfogénesis son aquéllas especializadas en el reconocimiento de la posición de la célula en relación con las que la rodean. Aunque han sido identificadas varias moléculas con esta función, las mejor conocidas y más importantes son unas glicoproteínas calcio-dependientes denominadas genéricamente cadherinas. Todas ellas están constituidas por 723-748 aminoácidos y forman parte de la membrana celular; la mayor parte de la molécula está situada externamente y una pequeña porción atraviesa la membrana y conecta con los haces de actina

que forman parte del citoesqueleto. Su función es interaccionar con otras moléculas de la misma naturaleza en las células de su misma estirpe o de otra. La mayor o menor expresión de estas moléculas facilita la agrupación de las células en los tejidos y la constitución de los órganos.

El tercer tipo de factores que intervienen en la morfogénesis son los factores peptídicos. Éstos, además de las acciones mitogénicas o inhibidoras de la multiplicación celular, intervienen en el proceso de inducción y diferenciación celular (*ver Capítulo 1.4*). Modulados por la insulina, por el aporte de nutrientes y a través de su unión a las proteínas transportadoras, intervienen de manera decisiva en el crecimiento global del embrión y del feto y en el crecimiento y morfología de los distintos órganos.

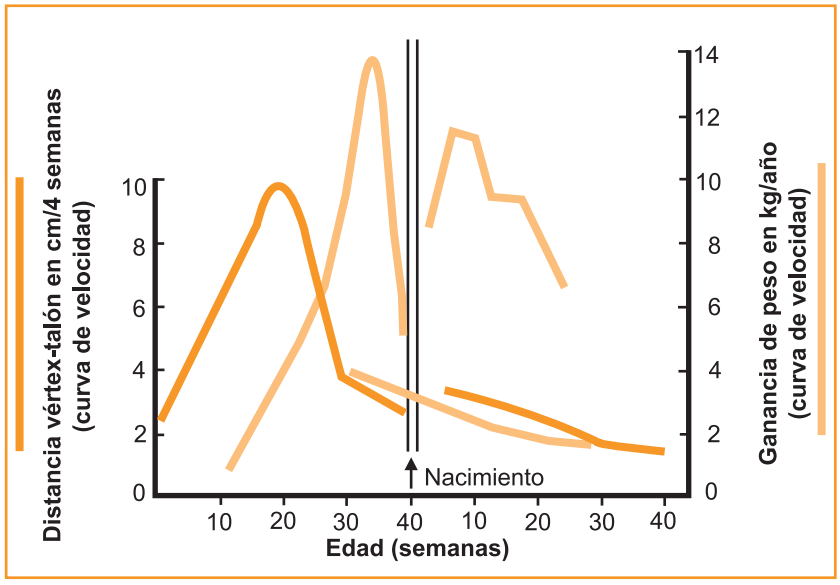


Figura 6. *Curvas de velocidad de crecimiento (longitud; peso) durante el periodo intrauterino y las primeras 40 semanas de vida posnatal. Se evidencia en ambas la restricción del ritmo de crecimiento en las semanas previas al nacimiento (Tanner JM).*

En resumen, el comportamiento de las células en las etapas iniciales del desarrollo embrionario depende de los constituyentes de la matriz extracelular, que guían su orientación y desplazamiento durante la organogénesis. Posteriormente, la multiplicación y diferenciación celular y la remodelación de los distintos órganos, depende de la secreción de un conjunto de factores estimulantes e inhibidores del crecimiento que lo potencian o bloquean y son responsables de la forma y tamaño definitivo del embrión y del feto.

La regulación del crecimiento durante este periodo es casi exclusivamente autocrina y paracrina, ocupando un lugar destacado la transferencia de nutrientes a través de la placenta, que a su vez modulan la secreción de insulina. La acción conjunta de ambos (nutrientes e insulina) estimula la síntesis de IGF-I e IGF-II y modula su actividad regulando el equilibrio entre sus proteínas transportadoras y el número y afinidad de los receptores.

A lo largo de todo el periodo prenatal, el crecimiento se hace a expensas sobre todo de la multiplicación celular; sin embargo, el ritmo mitótico y la importancia relativa de la hiperplasia, del aumento de tamaño o hipertrofia celular, y del depósito de sustancias extracelulares, varía desde las primeras semanas hasta el final de la gestación. En efecto, desde la semana 4ª a la 18ª, el embrión crece casi exclusivamente por hiperplasia; la tasa de mitosis es muy elevada y el tamaño celular pequeño, lo que se refleja en una aumento extraordinariamente rápido del DNA con cambios muy escasos en el contenido de RNA, que traduce una síntesis proteica muy poco importante. A esta fase sigue una etapa intermedia de hiperplasia e hipertrofia, con aumento del tamaño celular y disminución del índice mitótico, durante la cual el DNA aumenta más lentamente que el contenido proteico. Finalmente, a partir de la 28ª semana, el tamaño celular sigue aumentando y el índice de mitosis se reduce aún más. Simultáneamente, se producen cambios importantes en la composición corporal con reducción del agua total, a expensas del agua extracelular, y un incremento del depósito de grasa en el tejido subcutáneo.

Estos cambios en el tipo de proceso, hiperplasia e hipertrofia, en el ritmo de la multiplicación y crecimiento celular y en el depósito de grasa y otras moléculas, son responsables de la morfología de la curva de crecimiento, caracterizada por un aumento progresivo de la velocidad de crecimiento en longitud, que alcanza su máximo a la 18ª semana, mientras que el incremento máximo de peso tiene lugar más tardíamente, hacia la semana 34ª **(Figura 6)**. Cerca del término, el crecimiento fetal

se desacelera debido a la limitación del espacio uterino y a la incapacidad de la placenta para atender las elevadas demandas energéticas y plásticas del feto a término. Esto produce una inflexión o decalaje en la curva, que se corrige tras el nacimiento al cesar las restricciones intrauterinas **(Figura 6)**.

4.3. Crecimiento posnatal

Tampoco después del nacimiento la velocidad de crecimiento y el avance madurativo siguen una marcha uniforme, de manera que se pueden diferenciar tres periodos: el periodo de crecimiento acelerado de la primera infancia, el periodo de crecimiento estable de la etapa preescolar y escolar, y el periodo de aceleración del crecimiento de la pubertad.

4.3.1. Primera infancia

Comprende los dos primeros años de la vida extrauterina. Se trata de un periodo de crecimiento rápido, que se va desacelerando desde el nacimiento, una vez que se supera el periodo de crecimiento de recuperación, compensador de la restricción de las últimas semanas de vida intrauterina.

Durante este periodo se producen cambios importantes, entre ellos, la sustitución del mecanismo de regulación paracrino-autocrino del periodo fetal por la regulación endocrina, en la cual la hormona de crecimiento hipofisaria pasa a ocupar un papel destacado a partir del sexto mes. Al mismo tiempo, el patrón de crecimiento que estaba condicionado por el fenotipo materno se sitúa definitivamente en el canal correspondiente al genotipo del niño por lo que, al contrario de lo que sucede posteriormente, en esta edad es frecuente que en las curvas de distancia se crucen las líneas percentilares en sentido ascendente (*catch up*) en los hijos de madres bajas y en sentido descendente (*lagging down*) en los de madres de gran tamaño. Según datos de Smith, estos cambios de la senda de crecimiento finalizan habitualmente entre los 4 y 18 meses.

Además del peso y de la talla, otros parámetros antropométricos sufren cambios importantes: hay un aumento notable de la grasa corporal y una modificación de las proporciones corporales, con aumento progresivo del segmento inferior debido al crecimiento rápido de los miembros.

4.3.2. Periodo de crecimiento estable

Comprende el periodo preescolar y escolar, y se extiende desde los tres años hasta el comienzo del estirón puberal. Es un periodo de crecimiento lento y uniforme. La talla aumenta aproximadamente de 5 a 7 cm/año y sus incrementos tienden a disminuir ligeramente hasta alcanzar la mínima velocidad en el momento en que se inicia el estirón puberal.

Hacia la edad de 7-8 años, el ritmo de desaceleración disminuye y se observa un aumento ligero y transitorio de la velocidad (*mid-childhood spurt*). El peso sigue también un aumento lento y constante pero, al contrario que la talla, tiende a acelerarse progresivamente.

4.3.3. Pubertad y adolescencia

La pubertad se caracteriza por importantes cambios somáticos y emocionales, que coinciden con el proceso de maduración sexual. Es un periodo en el que coexisten un ritmo de crecimiento elevado y fenómenos madurativos importantes, que van a culminar con la consecución de la talla adulta, la expresión completa del dimorfismo sexual y el logro de la capacidad reproductiva.

El rasgo más característico del crecimiento somático es el denominado **estirón puberal**, que consiste en una aceleración brusca e intensa del crecimiento en longitud, que se acompaña de un proceso de remodelación morfológica y del crecimiento y maduración de las gónadas y genitales.

El estirón puberal es un fenómeno filogenéticamente reciente que sólo se manifiesta con claridad en los primates, y es muy difícil de expresar matemáticamente. En la representación gráfica aparece como una aceleración que sigue a la fase de crecimiento más lento de la etapa prepuberal. La curva es ligeramente asimétrica y muestra una rama ascendente que se inicia en el momento en el que la velocidad de crecimiento es mínima; alcanza su máximo, por término medio, a los 12 años en las niñas y a los 14 años en los niños, y desciende rápidamente a partir de este momento.

En el estirón participan prácticamente todas las estructuras corporales, pero lo hacen de manera desigual, y afecta más a la longitud del tronco que a los miembros **(Figura 7)**. Por eso, cuando se interrumpe o acorta el periodo de crecimiento prepu-

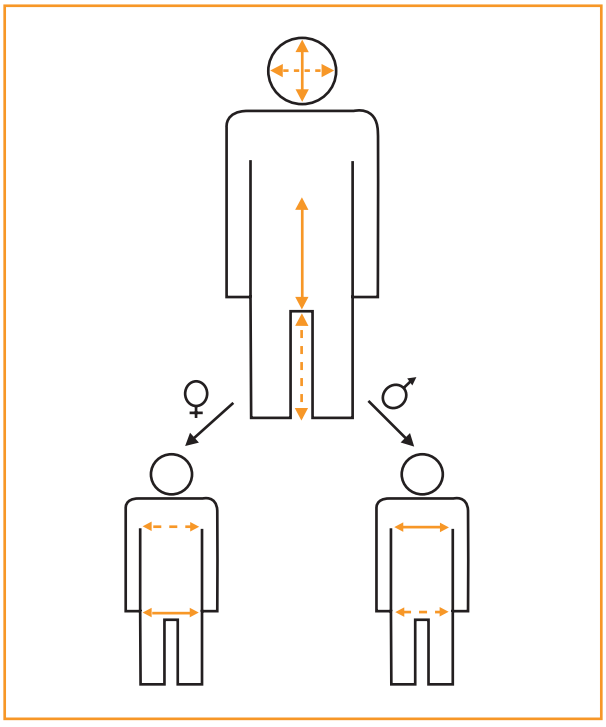


Figura 7. *Crecimiento diferencial de los segmentos corporales durante el estirón puberal. En la parte superior de la figura, las flechas de trazo continuo expresan el predominio del crecimiento del tronco y del eje vertical de la cabeza frente al de las piernas y al del eje horizontal de la cabeza, simbolizados con flechas de trazo discontinuo; y en la parte inferior, las flechas de trazo continuo representan el crecimiento más intenso del diámetro transversal de la pelvis en las chicas y de los hombros en los chicos.*

beral, como sucede en los casos de pubertad precoz, el segmento inferior es proporcionalmente corto en relación con la talla total. Por el contrario, en las situaciones de pubertad retrasada o infantilismo es muy frecuente, además de la talla alta, el hábito eunucoide.

Junto a las modificaciones en el tamaño y las relaciones segmentarias se producen en este periodo cambios importantes en la composición del organismo, que afectan sobre todo a las proporciones de masa muscular, grasa y hueso. Comparando en su conjunto el crecimiento de la masa corporal libre de grasa y de la grasa, se observa una diferencia muy ostensible entre ambos sexos. En los varones, el incremento de los tejidos no grasos es mucho más intenso; en cambio, las niñas acumulan mayor cantidad de grasa, lo que constituye una manifestación más del dimorfismo sexual.

5. Factores que condicionan y regulan el crecimiento

El crecimiento está determinado genéticamente y los factores ambientales lo que hacen es facilitar u obstaculizar la realización del patrón genético. La importancia relativa de la dotación genética y los factores ambientales varían en los distintos periodos y para los distintos rasgos o parámetros antropométricos: talla, peso, proporciones segmentarias y maduración sexual, entre otros.

En condiciones ambientales favorables, la curva de crecimiento refleja la potencialidad genética; cuando se produce una situación adversa, por ejemplo desnutrición, ésta repercute desfavorablemente sobre el crecimiento, si bien la intensidad de la respuesta varía de unos individuos a otros. Esta variabilidad depende del momento en que ocurra, de su duración, de las condiciones ambientales y de un fenómeno incompletamente conocido, la ecosensibilidad o capacidad de respuesta individual a los estímulos externos, que está ligada, al menos en parte, al sexo, al grado de heterocigosis, y en definitiva a la mayor o menor estabilidad del genoma.

Teniendo en cuenta la función que cumplen en la dinámica del crecimiento, todos los factores intrínsecos y extrínsecos que intervienen en él pueden incluirse en uno de los cuatro grupos siguientes: factores determinantes, realizadores, permisivos y reguladores **(Figura 8)**.

5.1. Factores determinantes

Se denomina así a los factores genéticos. Su importancia es decisiva, ya que condicionan no sólo la talla y morfología finales del individuo, sino el ritmo o velocidad de crecimiento en las distintas edades. Constituyen la base o sustrato fundamental sobre el que va a actuar la amplia gama de factores permisivos y reguladores.

El control genético del crecimiento se hace a través de un mecanismo poligénico, y dentro de él los distintos genes muestran su máxima actividad en distintos periodos de la vida prenatal y posnatal.

Además de un amplio apoyo experimental, en la especie humana prueban este hecho las diferencias raciales, las semejanzas entre poblaciones de

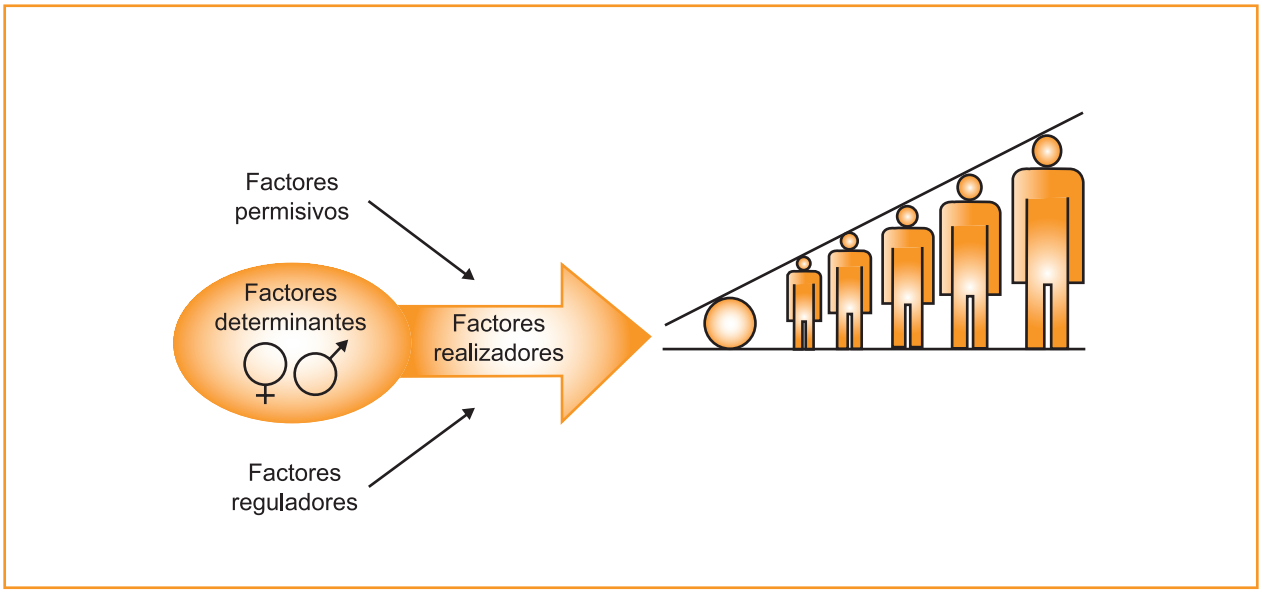


Figura 8. *Representación esquemática de los factores que condicionan y regulan el crecimiento (Hernández M* et al.*).*

un mismo grupo étnico y sobre todo la concordancia en gemelos monocigóticos. Tomando como ejemplo la talla adulta de los varones normales, en la población general la amplitud de la variación, representada por dos desviaciones estándar sobre la media, es de 25 cm; entre los hermanos, es de 16 cm y, en gemelos monocigóticos, educados y criados en el mismo ambiente, solamente de 1,6 cm. En estos últimos, el coeficiente de correlación, que al nacimiento es solamente de 0,58, debido a las influencias del medio intrauterino, se eleva a 0,94 a los 4 años.

La regulación genética de la velocidad de maduración o *tempo* de crecimiento es aún más precisa, si bien el grupo de genes implicados es independiente del que controla la talla y morfología adulta. Estudiando un indicador sensible y bien definido como es la edad de la menarquia en gemelas mono y dicigóticas de un mismo nivel social, se ha comprobado que la diferencia es de 2 y 12 meses respectivamente. Esto demuestra que es un rasgo controlado genéticamente, al igual que la maduración ósea, la erupción dentaria y otros índices madurativos.

Un fenómeno estrechamente ligado a la determinación genética es el denominado por Waddyngton canalización, que consiste en la capacidad del organismo en crecimiento para encontrar su propia senda o canal de desarrollo cuando una acción externa desfavorable, desnutrición o enfermedad, le aparta transitoriamente de ella. Para explicar este fenómeno se supone que cada niño tiene su propia trayectoria, que cumplirá si se le proporciona la energía necesaria y las condiciones ambientales adecuadas para llevarla a cabo. Después de sufrir una desviación, si cesan las circunstancias que la originaron, se inicia un proceso denominado por Prader, Tanner y Von Harnack crecimiento de recuperación (*catch up*), durante el cual la velocidad de crecimiento es de tres a cuatro veces superior a la media correspondiente para esa edad. Cuando se logra alcanzar la curva o canal original, el ritmo se frena de nuevo y se adapta a la trayectoria inicial.

La posibilidad de que el organismo sea capaz de compensar completamente la desviación depende de la duración y el momento en que se produce la alteración. Cuanto más precoz y más prolongada es la desnutrición o la enfermedad, más difícil será la recuperación completa. Esto explicaría la gravedad de los estados carenciales en los primeros meses de vida, y sobre todo durante la vida intrauterina, en la cual el ritmo de crecimiento es extraordinariamente acelerado.

Aunque el mecanismo de este fenómeno se conoce mal, se supone que existe un **sensor de tamaño** o sistema de control central que adapta en todo momento el ritmo de crecimiento para que la talla se ajuste a la previ sta genéticamente; cuando se produce un desajuste, éste es compensado al suprimir la causa y se lleva la talla al nivel

adecuado. Si la alteración es muy intensa o precoz, se modifica el mecanismo regulador y se produce un reajuste del tamaño ideal a un nivel más bajo; en estos casos el crecimiento de recuperación, o *catch up*, es incompleto, y la talla definitiva inferior a la talla determinada genéticamente. El papel de las distintas hormonas y factores de crecimiento en este proceso de aceleración compensadora del crecimiento no está aclarado, pero en algunos estudios experimentales y en el curso de la rehabilitación nutricional en niños desnutridos se ha observado un aumento de la frecuencia de los pulsos o episodios secretores de GH y una elevación de los niveles de IGF-I en suero.

5.2. Factores permisivos

Son un conjunto de factores que hacen posible la realización del proyecto de crecimiento determinado genéticamente. Entre ellos, destaca por su importancia el aporte de oxígeno y nutrientes y la normalidad de todas las estructuras que intervienen en el proceso de digestión-absorción y metabolismo, así como la acción de diversos factores exógenos cuya capacidad para modificar el patrón de crecimiento ha sido demostrada en numerosos estudios clínicos y experimentales. Además de la nutrición, son importantes: el estatus socioeconómico, el número de hijos, los estímulos afectivos y el desequilibrio ecológico que supone la sustitución del ambiente natural por un medio, parcial o totalmente, domesticado o industrializado.

5.2.1. Nutrición

La influencia de la nutrición ha sido ampliamente estudiada, y hay dos tipos de observaciones que prueban de manera indiscutible la relación entre nutrición y crecimiento: la diferencia de peso y talla entre grupos étnicos muy próximos pero con hábitos alimentarios diferentes, y la influencia de periodos de hambre o dietas inadecuadas sobre la tendencia secular y el patrón de crecimiento individual.

La nutrición actúa sobre el crecimiento directamente aportando los sustratos energéticos y elementos plásticos necesarios para la síntesis y depósito de nuevos tejidos, e indirectamente modulando la secreción de GH e IGF-I.

En el ayuno y en la desnutrición crónica se crea un estado de resistencia a la acción de la hormona de crecimiento que hace que disminuya la concentración de IGF-I en plasma. Esto rompe el equilibrio GH/IGF-I y provoca un incremento de la secreción de GH, con aumento de la amplitud y el número de los episodios secretores. Aunque existen algunas lagunas en el conocimiento del mecanismo a través del cual se produce esta resistencia a la GH, se sabe que en las situaciones de restricción calórica y/o dietas hipoproteicas hay una disminución del número de receptores de alta afinidad para GH y, además, una alteración posreceptor, que consiste fundamentalmente en una alteración de la expresión del gen de *IGF-I*, que se pone de manifiesto por la disminución del mRNA.

La repercusión clínica de las alteraciones de la nutrición sobre el crecimiento es distinta en los países en vías de desarrollo y en los países industrializados. En los primeros, la desnutrición primaria grave es habitual, y afecta a un porcentaje elevado de niños en periodos críticos (etapa prenatal y primeros años de vida); se asocia a infecciones y a otros factores ambientales desfavorables y repercute negativamente sobre la talla final.

En los países desarrollados la desnutrición proteico-energética grave prácticamente no existe, el hipocrecimiento nutricional es poco frecuente y se da casi exclusivamente en el curso de procesos malabsortivos, en grupos que siguen dietas especiales: vegetarianos estrictos, macrobióticos, o regímenes inadecuados para el tratamiento o prevención de la obesidad u otras enfermedades metabólicas. En estas situaciones, sin que exista un cuadro de desnutrición clínicamente detectable, se producen carencias en algunos nutrientes esenciales como el magnesio, zinc, azufre, fósforo o determinados aminoácidos, que se manifiestan exclusivamente por disminución de la velocidad de crecimiento.

5.2.2. Factores psicosociales

Además de la nutrición, los factores psicosociales tienen una marcada influencia sobre el equilibrio afectivo, el desarrollo intelectual y el crecimiento somático. Sin embargo, resulta muy difícil separar las consecuencias de la carencia afectiva de las alteraciones dependientes de la desnutrición, ya que la deprivación psicosocial suele asociarse

a carencias nutritivas, infecciones crónicas o recidivantes, bajo nivel cultural y en general al conjunto de factores que inciden negativamente sobre la población infantil de los países en desarrollo y, dentro de los países industrializados, en las áreas marginadas de los suburbios de las grandes ciudades.

A pesar de las dificultades para aislar estos factores, hoy parece probado que la deprivación social es capaz de originar un hipocrecimiento, debido a un déficit transitorio de secreción de GH, que se corrige espontáneamente cuando se separa a los niños afectados del medio familiar hostil. Es posible que situaciones similares, aunque menos evidentes, sean responsables, en parte, del incremento de la ganancia pondoestatural de algunos niños, en el periodo escolar o en las vacaciones, según que la influencia desfavorable se encuentre en el medio familiar o en la escuela.

5.2.3. Otros factores permisivos

Junto a la nutrición y los estímulos psicosociales existe otro grupo de condiciones ambientales que tiene una clara influencia sobre el crecimiento, entre ellas, la urbanización, el clima, el tamaño de la familia y el estatus económico-social.

La influencia de la **urbanización** ha sido demostrada en varios estudios y en conjunto puede afirmarse que los niños de las ciudades crecen más deprisa, maduran más precozmente y alcanzan una talla media superior en 2-5 cm a los del medio rural, siendo las diferencias más ostensibles en los países en vías de desarrollo que en los países desarrollados. Aunque no se conocen exactamente las causas de esta modificación del patrón de crecimiento, se piensa que es debida a la suma de varios factores: una alimentación más equilibrada, menor gasto energético en actividad física, la acción de la iluminación más intensa y prolongada en la calle y en las viviendas, y la existencia de una estimulación sexual más precoz a través de la exhibición de carteles, revistas y espectáculos.

Los efectos del **clima** se reflejan sobre todo en la velocidad de crecimiento, que se acelera en primavera y verano y disminuye en los meses de otoño e invierno. La temperatura influye también como un factor selectivo sobre el coeficiente de linealidad, que hace que los habitantes de las zonas más cálidas tengan miembros relativamente más largos.

El **número de hijos** modifica sobre todo el *tempo* del crecimiento, siendo ostensiblemente más lento el ritmo madurativo en los últimos hijos de la serie, que se traduce por una talla inferior a lo largo de la infancia, aunque al final no haya diferencias significativas de la talla adulta entre los hermanos nacidos antes o después.

El **estatus económico-social** engloba una serie de factores ambientales íntimamente relacionados, algunos de los cuales ya han sido mencionados, que son capaces de modificar la velocidad de crecimiento y la talla definitiva. Su influencia varía de acuerdo con el nivel de desarrollo de la comunidad, el nivel medio de rentas, el grado de ruralismo y el porcentaje de endogamia, entre otros.

Hace unos años, en los países industrializados la diferencia de la talla media entre los niños de las clases más favorecidas y los grupos sociales más bajos eran de 2 cm a los 3 años y de 5 cm en la adolescencia; en cambio, no existían prácticamente diferencias en el peso, debido a que los niños de las familias más modestas tienen una sobrecarga de peso en relación a la talla como consecuencia del consumo excesivo de azúcar y otros hidratos de carbono.

Por el contrario, Lindgren, en un estudio realizado en Suecia, no ha encontrado diferencias en la talla media en niños de 7 a 17 años ni en la edad de la menarquia en función de la profesión de los padres. De confirmarse este hallazgo en otros estudios, la ausencia de diferencias entre los distintos grupos sociales de una determinada comunidad podría ser utilizada como medida del grado de desclasamiento social.

5.3. Factores reguladores

Son los encargados de convertir las instrucciones codificadas en los genes en el fenotipo del individuo adulto, de acuerdo con las posibilidades del ambiente y del conjunto de factores permisivos.

Su función es poner en marcha, acelerar o retardar los procesos bioquímicos responsables de la diferenciación, división y crecimiento celular, así como estimular la síntesis y secreción de determinadas moléculas a la matriz extracelular. El mecanismo de acción es la inducción o represión de la síntesis de enzimas, hormonas o proteínas estructurales. Sus características y la forma en que actúan

y se interrelacionan varían a lo largo del desarrollo ontogénico.

En las etapas iniciales del desarrollo embrionario la regulación se hace exclusivamente a través de un mecanismo autocrino o paracrino. Más adelante, en periodos más tardíos de la vida fetal, ciertos tejidos se diferencian como glándulas endocrinas y secretan hormonas con actividades metabólicas específicas, que van a ser los principales reguladores del crecimiento posnatal. Algunas inician su función ya durante la vida intrauterina, mientras que otras no tienen prácticamente actividad hasta después del nacimiento.

Las características y el mecanismo de acción de los factores y hormonas reguladoras del crecimiento más importantes, se resumen a continuación.

5.3.1. Hormonas

Las hormonas más directamente implicadas en la regulación del crecimiento son: la hormona de crecimiento hipofisaria (GH), las hormonas tiroideas, el cortisol, los andrógenos suprarrenales, la testosterona, los estrógenos, los metabolitos activos de la vitamina D y la insulina (*ver Capítulos 1.4 y 1.24*).

La **hormona de crecimiento hipofisaria** es el principal factor regulador del crecimiento durante la vida extrauterina. Forma, junto con las somatomedinas o factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I e IGF-II) y sus proteínas transportadoras, un sistema complejo capaz de adaptar en cada momento la velocidad de crecimiento a la situación metabólica y a las condiciones ambientales.

Además de efectos importantes sobre el metabolismo intermediario, actúa directamente sobre el cartílago de crecimiento facilitando la expresión del gen de *IGF-I*, que, a su vez, estimula la maduración y multiplicación de los condrocitos más diferenciados y la síntesis por éstos de la matriz extracelular.

Las **hormonas tiroideas**, sobre todo la T_3, desempeñan un papel fundamental en la maduración del sistema nervioso central y sobre la síntesis y liberación de GH. Sobre el cartílago de crecimiento estimulan la síntesis de enzimas relacionadas con la mineralización, pero, a diferencia de la GH, no tienen ningún efecto sobre la proliferación celular.

Los **andrógenos**, tanto los suprarrenales como los gonadales, ejercen una acción muy importante en el proceso de diferenciación y maduración sexual. En el crecimiento en longitud intervienen, a través de un mecanismo indirecto, incrementando la secreción de hormona de crecimiento hipofisaria en la pubertad y, directamente, estimulando la proliferación celular y la síntesis de la matriz extracelular en el cartílago.

Los **estrógenos** tienen también un mecanismo de acción doble: a nivel hipotálamo-hipofisario aumentan la secreción de GH y en el cartílago estimulan la síntesis de la matriz extracelular y su mineralización. Por eso, a pequeñas dosis estimulan el crecimiento, mientras que a dosis altas lo limitan, por su capacidad para acelerar la calcificación del cartílago de crecimiento y el cierre epifisario.

La **insulina** actúa sobre el metabolismo celular facilitando la transferencia de nutrientes al interior de la célula, comportándose sobre el crecimiento más bien como un factor permisivo que como un factor regulador. Por eso, su acción es más destacada durante la etapa prenatal en la cual el crecimiento depende casi exclusivamente del aporte de oxígeno, energía y nutrientes esenciales, y de su transferencia a través de la placenta.

Los **glucocorticoides**, a dosis fisiológicas, tienen una acción permisiva y sinérgica con otras hormonas y factores de crecimiento: concretamente facilitan la secreción de GH. A dosis elevadas y mantenidas, como sucede en los tratamientos crónicos, actúan desfavorablemente por inhibir la secreción de hormona de crecimiento en la hipófisis, y a nivel periférico la síntesis de colágeno y otras macromoléculas de la matriz extracelular.

La **parathormona** y los **metabolitos activos** de la vitamina D regulan la actividad de los osteoblastos y la mineralización, y a través de estos procesos el crecimiento y maduración óseos (*ver Capítulos 1.24 y 1.27*).

5.3.2. Factores locales de crecimiento

La principal diferencia con las hormonas es que, en vez de ser sintetizados exclusivamente por un tipo de células especializadas en un lugar alejado de aquél en el que van a actuar, son producidos por un gran número de tejidos y actúan localmente, sobre

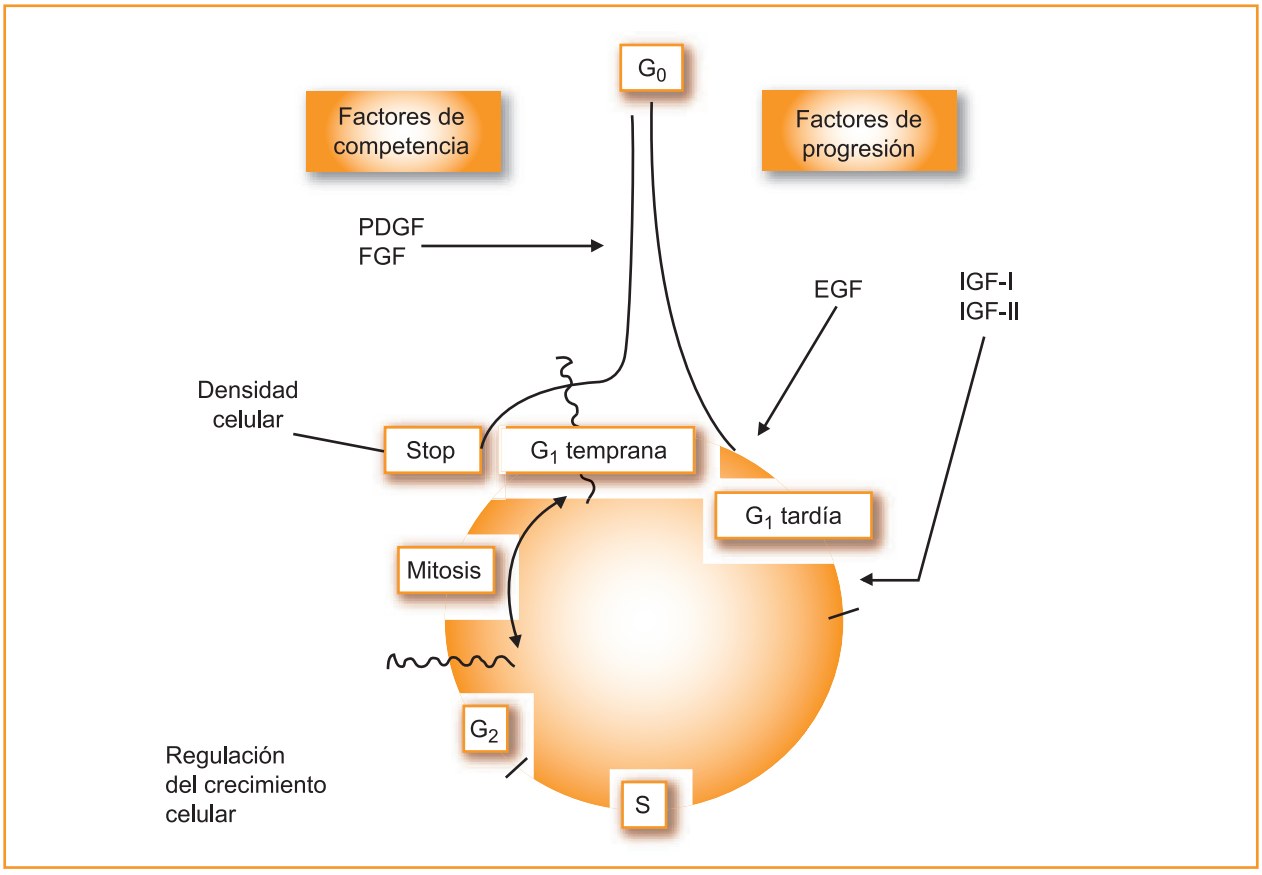


Figura 9. *Principales factores locales de crecimiento y su relación con el ciclo celular. EGF: factor de crecimiento epidérmico; FGF: factor de crecimiento de los fibroblastos; IGF: factor de crecimiento análogo a la insulina; PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas.*

las propias células que los producen o sobre células próximas, mediante un mecanismo intracrino, autocrino o paracrino (*ver Capítulo 1.4*).

La vía de acción común de todos estos factores es la interacción con receptores de la membrana celular; la unión con el receptor provoca modificaciones físicas en la propia membrana, que conllevan cambios en la velocidad de transporte de determinados iones (K^+) y precursores metabólicos (glucosa, aminoácidos, nucleótidos), a los que siguen cambios bioquímicos en el interior de la célula. Según el tipo de receptor, estos cambios pueden provocar efectos catalíticos en el propio receptor, como en el caso de los que poseen actividad tirosina kinasa, o afectan a la síntesis de adenilciclasa, a las proteínas-G, a la relación GMPc/AMPc, y a la concentración del calcio iónico o del fosfatidilinositol. Las modificaciones en la concentración intracelular de estas sustancias, que se comportan como segundos mensajeros, activan proteína kinasas citosólicas y estimulan la síntesis de algunas enzimas, como la ornitina decarboxilasa, que son responsables, a su vez, de la síntesis de poliaminas (putrescina, espermina y espermidina) y de otras moléculas, lo que constituye la expresión bioquímica inicial del crecimiento o diferenciación celular.

Según el momento del ciclo celular en que actúan, se han clasificado estos factores en dos grupos: factores de competencia o iniciadores y factores de progresión. Los primeros lo que hacen es inducir a la célula a pasar de la situación de reposo (G_0) a la situación G_1 haciéndola competente para responder al segundo tipo de factores (factores de progresión) que la hacen avanzar hacia la fase de síntesis de DNA (fase S) y completar el ciclo **(Figura 9)**.

Al primer grupo pertenecen el factor de crecimiento de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF). Entre los se-

Tabla I. PRINCIPALES GRUPOS O FAMILIAS DE FACTORES DE CRECIMIENTO POLITÓPICOS

Factores de crecimiento semejantes a la insulina
IGF-I
IGF-II
Factores de crecimiento epidérmico
EGF
TGF-α
Anfirregulina
Factores de crecimiento de los fibroblastos (FGF)
FGF ácido
FGF básico
Oncogenes (*v-int, v-hst*)
Factores de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGF)
β, β (oncogen *v-sis*)
α, β
α, α
Factores transformadores β
TGF β_1, β_2 y β_3
Inhibinas
Activinas
Hormona antimülleriana
Oncogenes (vg_1)
Proteínas morfogénicas óseas

gundos, se encuentra el factor de crecimiento epidérmico (EGF) o su análogo, el factor transformador α (TGF-α), que actúan precozmente en la fase G_1, y las somatomedinas (IGF-I y IGF-II) que actúan en una etapa más tardía e intervienen en la síntesis de la enzima timidina kinasa necesaria para la replicación del DNA.

Junto a este grupo de factores cuya función es estimular la multiplicación y/o el crecimiento celular, existe otro sistema contrapuesto, cuya finalidad es frenar el crecimiento de los órganos y del organismo en su conjunto cuando ha alcanzado el tamaño determinado genéticamente. Este sistema inhibidor es peor conocido; se sabe que intervienen fenómenos físicos de densidad celular, posición y contacto entre las células, y fijación o anclaje a determinados sustratos.

Además, hay datos que sugieren la existencia de un mecanismo de *feedback* de naturaleza bioquímica, que consiste en la producción y liberación al medio de sustancias capaces de inhibir el crecimiento: las denominadas por Bullough calonas o chalonas. A pesar de que éstas aún no están tan bien caracterizadas como los factores estimulantes del crecimiento, en los últimos años se han descrito algunas moléculas con efectos inhibidores de la proliferación celular, entre ellas uno de los factores que intervienen en la transformación celular (TGF-β), el factor de necrosis tumoral (TNF), la inhibina y algunas clases de interferón. Todas ellas juegan un papel decisivo en la morfogénesis y en el mantenimiento del tamaño de algunos órganos, como el hígado o el riñón, en el curso de los procesos de regeneración o hipertrofia compensadora, así como en el desarrollo embrionario.

Algunos de estos factores, como los que forman parte del sistema TGF-β (TGF-β_1, TGF-β_2 y TGF-β_3) tienen un carácter bifuncional, comportándose como inhibidores o estimulantes de la multiplicación celular, en función de la estirpe celular, nivel de desarrollo alcanzado por el tejido u órgano y la presencia de otros factores de crecimiento. Esto demuestra que la respuesta de la célula en un momento determinado depende más de su situación metabólica y grado de diferenciación que de la naturaleza de la señal. Por eso, algunos factores como los miembros de la familia TGF-β, que son fundamentalmente inhibidores, pueden comportarse como mitógenos en las primeras semanas del desarrollo embrionario y como inhibidores del crecimiento celular o incluso responsables de la apoptosis o muerte celular programada en las últimas fases del desarrollo embrionario.

Los principales grupos o familias de factores de crecimiento con actividad mitogénica o inhibidora que actúan sobre un amplio grupo de células o tejidos de distinta estirpe se recogen en la **Tabla I**, y en la **Tabla 2** los factores cuya acción es más específica y va dirigida exclusivamente a un determinado tipo de células.

5.4. Factores realizadores

Se denominan habitualmente órganos efectores, ya que en realidad son los órganos diana de los demás factores de crecimiento. Entre los mismos se encuentran todas las estructuras encargadas de llevar a cabo el crecimiento, pero el representante

Tabla 2. FACTORES DE CRECIMIENTO CON ACTIVIDAD LIMITADA A ALGUNOS TEJIDOS O CÉLULAS

Factores de crecimiento neural

Factores de crecimiento del sistema hematopoyético

- Eritropoyetina
- Factores estimuladores de colonias (CSF):
  - Granulocito-macrófago (CSF)
  - Macrófago
  - Interleukina 3

Otras citokinas

- Interleukinas 1-9
- Factor de necrosis tumoral (TNF)
- Timopoyetina

Hormonas gastrointestinales

- Bombesina (hormona liberadora de gastrina)
- Enteroglucagón

más importante es el esqueleto, principal ejecutor del crecimiento en longitud.

El esqueleto realiza funciones muy variadas e importantes, debido a que es una agrupación de varios tejidos: óseo, cartilaginoso, conjuntivo, estructuras vasculares y nerviosas, sistema hematopoyético y elementos retículo-histiocitarios, cada uno de los cuales participa en actividades muy diversas.

Una variedad de estos tejidos, el cartílago de crecimiento o cartílago fisario, es el encargado de llevar a cabo el crecimiento longitudinal a través del proceso de osificación endocondral, que comporta a su vez la progresión armónica de tres procesos complementarios y estrechamente relacionados:

- Proliferación celular.
- Diferenciación de las células y síntesis de la matriz extracelular.
- Degeneración y lisis celular, mineralización e invasión vascular.

El cartílago de crecimiento está especialmente dotado para cumplir esta función por la capacidad del condrocito para dividirse, aun estando sometido a fuertes presiones, y para responder a la acción de diversas hormonas no sólo con cambios metabólicos sino sintetizando IGF-I y otros factores de crecimiento, que a través de un mecanismo autocrino-paracrino regulan su propia diferenciación y multiplicación.

6. Bases moleculares del hipocrecimiento armónico

La deficiencia de hormona de crecimiento produce un fenotipo caracterizado por un hipocrecimiento armónico, facies de muñeca, frente abombada y puente nasal escasamente desarrollado **(Figura 10)**. A pesar de la disponibilidad de numerosos métodos para la evaluación de la función hipofisaria, hasta un 75% de los casos de deficiencia de GH se consideran idiopáticos. Aunque su frecuencia es difícil de establecer y puede variar en función de los criterios diagnósticos y el origen étnico de la población en estudio, se ha estimado una prevalencia de, al menos, 1/3.480 niños. Se considera, asimismo, que entre un 5 y un 30% de pacientes con deficiencia de GH tienen un familiar de primer grado también afectado, lo que sugiere una causa genética. Igualmente, el hecho de que sólo el 20% de los casos esporádicos de deficiencia de GH se deban a factores ambientales sugiere, asimismo, la posibilidad de que parte de los casos esporádicos tengan igualmente una causa genética.

6.1. Deficiencias genéticas de la hormona de crecimiento (GH)

La complejidad de la regulación funcional de la GH humana determina que sean numerosos los mecanismos genéticos que en potencia puedan determinar una secreción o acción insuficiente de GH. A día de hoy, se clasifican las alteraciones genéticas asociadas a déficit de GH en dos grandes grupos:

1. Deficiencia familiar aislada de GH (DAGH).

2. Deficiencia familiar combinada de hormonas hipofisarias (DCHH).

Es menester mencionar que un déficit de GH puede igualmente aparecer asociado a alteraciones del desarrollo embriológico causadas por anomalías monogénicas o cromosomopatías. En general, cualquier anomalía en el desarrollo de la línea media que afecte al desarrollo de la hipófisis o del hipotálamo, pueden generar deficiencia de GH.

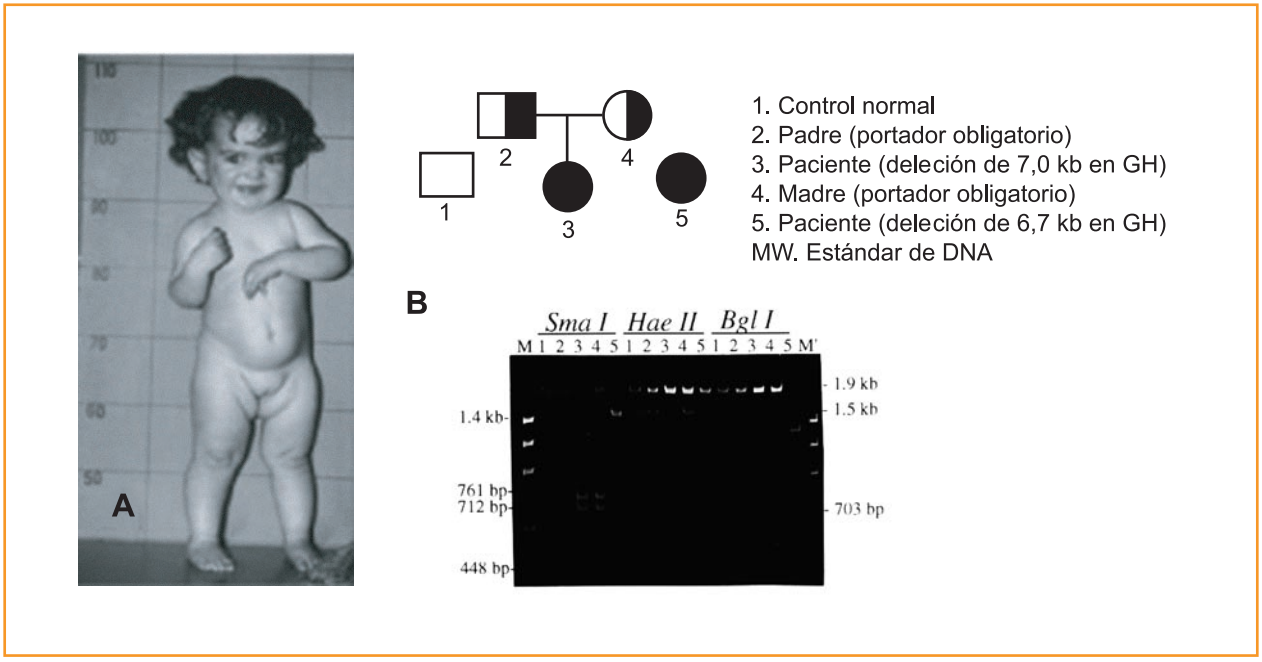


Figura 10. *A: fenotipo característico de deficiencia en hormona de crecimiento; B: electroforesis en gel de poliacrilamida al 5% de los productos resultantes tras la digestión con las enzimas de restricción Sma I, Hae II y Bgl I de un producto de PCR de aproximadamente 1,9 kb entre las regiones que flaquean el gen de* GH1. *Se aprecia la existencia de una deleción de aproximadamente 7 kb de secuencia de homocigosis que incluye el gen de* GH1. *Las líneas número 1 corresponden a un sujeto control. Las líneas número 3, a la paciente con una deleción de 7 kb del gen de* GH. *Las líneas 2 (padre) y 4 (madre) corresponden a los padres de la paciente (portadores obligados). Las líneas número 5 corresponden a otro paciente con una deleción de 6,7 kb del gen de* GH. *Las líneas M y M' corresponden a los marcadores estándar.*

6.1.1. Deficiencia aislada de GH (DAGH)

El gen codificante de la GH, denominado *GH1*, forma parte del conjunto génico de GH, localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q22-24). El conjunto de GH consta de 5 genes consecutivos, alineados en la misma orientación transcripcional. Todos ellos presentan un alto grado de homología entre sus respectivas secuencias (92-98%) y una estructura genómica similar de 5 exones y 4 intrones. El gen de *GH1* se expresa en las células somatotropas de la hipófisis anterior. Su producto primario es una prohormona de 217 aminoácidos que contiene en su extremo N-terminal un péptido señal necesario para su traslocación al interior del retículo endoplásmico en donde se completa su procesamiento mediante la escisión del péptido señal, dando lugar a una proteína de 191 aminoácidos y 22 kDa que corresponde a la GH propiamente dicha.

Se conocen al menos cuatro tipos mendelianos de DAGH que varían en cuanto a la severidad del déficit de GH, el patrón de transmisión hereditaria, el gen afectado y la respuesta al tratamiento con GH. Las bases moleculares son diferentes, incluyendo tanto anomalías moleculares que afectan directamente la expresión del gen de *GH1* como alteraciones que afectan, directa o indirectamente, el proceso regulado de secreción de la GH:

6.1.1.1. DAGH tipo IA

De incidencia desconocida, es la variante más severa. Los pacientes presentan generalmente una longitud normal o ligeramente inferior a la normal en el nacimiento y pueden mostrar episodios de hipoglucemia severa durante el periodo neonatal. Sin embargo, su patrón de crecimiento se ve seriamente afectado a partir de los seis meses de vida extrauterina. Los niveles circulantes de GH son indetectables, tanto en condiciones basales como

tras estimulación farmacológica. Se transmite según un patrón autosómico recesivo (AR) y, en la mayoría de los pacientes, consiste en una deleción homocigota del gen de *GH1* **(Figura 10)**, si bien se han descrito igualmente otros tipos de mutación que generan en todos los casos proteínas truncadas no funcionales.

6.1.1.2. DAGH tipo IB

Se transmite de forma AR, y aparece asociada a niveles plasmáticos de GH bajos, pero detectables. El resto de las funciones endocrinas no se distinguen de la normalidad, y el fenotipo es menos acusado que en la DAGH tipo IA. Las bases moleculares son heterogéneas y pueden afectar tanto a los niveles de expresión del gen de *GH1*, en pacientes homocigotos portadores de mutaciones en sitios de corte y empalme (*splice sites*) y homocigotos compuestos, como al gen del receptor de GHRH (*rGHRH*), mediador necesario de la secreción de GH por GHRH.

6.1.1.3. DAGH tipo II

La DAGH tipo II presenta características clínicas similares a las asociadas al tipo IB, aunque con un fenotipo de deficiencia de GH menos severo y con un patrón de transmisión autosómico dominante (AD). Se han descrito alteraciones monoalélicas de secuencias reguladoras de los puntos de empalme (*splice donors* y *splice enhancers*) que provocan la pérdida del exón 3 del gen de *GH1* en el mRNA maduro, así como mutaciones de sentido equivocado (*missense*) que implican la sustitución de residuos conservados.

Aunque el efecto dominante negativo de estas mutaciones no se ha definido claramente todavía, es posible que la proteína mutante llegue a formar heterodímeros con la GH normal mediante la constitución de enlaces disulfuros entre los residuos libres de cisteína, que podrían causar un bloqueo de la secreción regulada de GH en las somatotropas.

6.1.1.4. DAGH tipo III

Es el tipo menos frecuente, siendo muy pocos los pacientes descritos de familias que presenten una deficiencia aislada de GH con un patrón recesivo de transmisión hereditaria ligado al X. En todos los casos de varones afectados, la hipo-γ-globulinemia es una constante que acompaña al déficit de GH. El análisis genético de algunas de las familias afectadas indica que la combinación de una a-γ-globulinemia ligada al X (XLA) y la deficiencia aislada de GH podrían ser debidas a una alteración del gen *BTK* (***B**ruton's **T**yrosine **K**inase Gene*), localizado en Xq21.3-q22, y/o de un gen contiguo, probablemente implicado en la expresión de GH.

6.1.2. Deficiencia combinada de hormonas hipofisarias (DCHH)

Se caracteriza por presentar deficiencia de una o más de las hormonas tróficas hipofisarias (ACTH, TSH, FSH, LH y PRL) junto a la deficiencia de GH.

El patrón de transmisión hereditaria es variado, incluyendo tanto el AR como el AD y el ligado al X. Las alteraciones genéticas responsables de la mayoría de los casos de DCHH han sido recientemente establecidas, en múltiples casos, gracias a la existencia y caracterización de modelos animales (ratón) de la enfermedad causada por mutaciones naturales. En todos los casos descritos, consisten en mutaciones que afectan a distintos factores de trascripción hipofisarios implicados tanto en la regulación del desarrollo fetal de las distintas líneas celulares anterohipofisarias, como en el control transcripcional del gen de *GH1*.

Las mutaciones descritas hasta la fecha afectan a los siguientes genes:

1. *POU1F1 (PIT1)* (3p11): se transmite de forma tanto AR (mutaciones que afectan al dominio de unión al DNA) como AD (mutaciones fuera del dominio de unión a DNA). Se asocia a déficit de GH, PRL y TSH.

2. *PROP1* (5q): codifica un factor de trascripción que durante el desarrollo de la hipófisis se expresa exclusivamente en aquellas células que posteriormente expresan el gen de *POU1F1*. El fenotipo se caracteriza por una deficiencia combinada de GH, PRL, TSH, LH y FSH, siendo el patrón de transmisión AR.

3. *LHX3* (9q34): de reciente descubrimiento, codifica una proteína homeodominio del tipo LIM. Las mutaciones en este gen se transmiten de forma AR, generando un fenotipo de deficiencia hormo-

nal caracterizado igualmente por una deficiencia combinada de GH, PRL, TSH, LH y FSH con niveles normales de ACTH.

4. *LHX4* (1q25): es otro miembro de la familia de proteínas homeodominio LIM. El fenotipo se caracteriza por la presencia de talla baja, junto con alteraciones en la glándula hipofisaria y cerebelo, asociadas a anomalías de la silla turca, así como por una deficiencia combinada de GH, PRL, TSH, LH, FSH y ACTH. El patrón de transmisión es AD.

5. *HESX1* (3p21.2-21.1): perteneciente a la familia de proteínas homeodominio, cuyas mutaciones han sido descritas en pacientes con atrofia óptica congénita (como en la displasia septo-óptica), hipoplasia de la hipófisis anterior y defectos en la línea media. Se transmite según un patrón AD, con un fenotipo hormonal variable.

Hasta la fecha no se ha descrito ninguna mutación del gen del péptido ghrelin (*3p26-p25*) causante de deficiencia de GH.

6.2. Alteraciones embriológicas y deficiencia de GH

Entre el amplio número de alteraciones embriológicas y síndromes genéticos que aparecen asociados a deficiencia de GH, sólo se conocen las causas moleculares subyacentes en algunos de ellos.

6.2.1. Holoprosencefalia

Es una malformación de la línea media que aparece asociada frecuentemente con labio leporino y alteraciones del desarrollo del tracto olfatorio, microftalmía y ciclopia, así como acompañada de déficit psicológicos y disfunciones hipotalámicas de distinto grado. Asimismo, puede cursar con deficiencia aislada de GH o combinada de hormonas hipofisarias. La mayoría son casos esporádicos o debidos a cromosomopatías (trisomía 13, 13q-, 18p-, 7q-); sin embargo, un 30% de los mismos se transmiten hereditariamente según un patrón autosómico dominante o recesivo.

Estudios recientes han demostrado que mutaciones identificadas en genes que codifican proteínas señalizadoras de la migración neuronal, tales como *ZIC2* en 13q32, y *Sonic Hedgehog* en 7q36, son responsables de dos tipos de holoprosencefalia. Al menos dos genes adicionales aparecen implicados en esta patología, el *SIX3*, localizado en el cromosoma 2p21, encargado de codificar un factor de trascripción humano esencial para el desarrollo del ojo, y el *TGIF (**T**ransforming **G**rowth **I**nteracting **F**actor)* en 18p11.3.

6.2.2. Síndrome de Rieger

Se caracteriza por la existencia de displasia del iris, hipodontia, atrofia óptica y deficiencia ocasional de GH. El patrón de transmisión mendeliano es autosómico dominante con expresión variable.

Se trata de un síndrome heterogéneo en el que al menos dos loci aparecen implicados: el gen de *PITX2* (4q25), y el *RIEG2* (13q14), cuya identidad no se conoce con exactitud. El gen *PITX2* parece desempeñar una función relevante en el desarrollo de numerosos órganos, además de participar en la determinación de la asimetría bilateral.

6.2.3. Displasia septoóptica o síndrome de Morsier

Se caracteriza por una hipoplasia del nervio óptico que puede ir acompañada de anomalías del *septum pellucidum* y del cuerpo calloso.

El grado de deficiencia hipofisaria es variable, pudiendo presentarse tanto con un déficit aislado de GH, como con deficiencias combinadas antehipofisarias. La mitad de los pacientes presenta, además, diabetes insípida. La alteración parece radicar en el hipotálamo. El síndrome de Morsier es casi siempre esporádico, si bien algunos casos sugieren un modo de transmisión hereditaria autosómico recesivo. Recientemente, se ha sugerido que una mutación en el gen *HESX1* podría constituir la base molecular en algunos de estos pacientes.

6.2.4. Síndrome de ectrodactilia-displasia ectodérmica-labio leporino

También conocido como síndrome EEC, puede transmitirse tanto de forma AD [EEC1 (7q11.2-q21.3)], como AR (EEC2).

Los elementos clínicos se indican en la denominación del síndrome, pudiendo existir en algunos pacientes un déficit de GH asociado y ausencia del *septum pellucidum*. Recientemente, se han identificado mutaciones en el gen *p63* en 40 de un total de 43 individuos afectados por EEC.

El gen *p63* es un homólogo del supresor tumoral p53. En el ser humano se expresa en el epitelio basal escamoso y puede codificar formas tanto transactivantes como dominantes inhibitorias. Con la excepción de una mutación que provoca un error de lectura en el exón 13, todas las mutaciones identificadas son del tipo de sentido equivocado (*missense*), afectando a los codones 204, 227, 279, 280 y 304 de la proteína. El alto índice de detección en pacientes afectados, junto con la consistencia de las mutaciones detectadas en lo que se refiere al dominio de la proteína afectado por las mismas, sugiere que las mutaciones en el gen de *p63* son responsables del fenotipo asociado a EEC.

6.2.5. Anemia de Fanconi

Se transmite de forma AR y se caracteriza por la presencia de anemia, leucopenia, trombocitopenia, hiperpigmentación de la piel, anomalías del pulgar y malformaciones renales y cardiacas. En un estudio publicado recientemente por Wajnrajch *et al.*, se detectaron anomalías endocrinas en un 81% de los pacientes afectados. Entre éstas, se incluyen: talla baja, deficiencia de GH, hipotiroidismo, intolerancia a glucosa, hiperinsulinemia, y/o diabetes mellitus. En el mismo estudio, en un 44% de los pacientes se detectó una respuesta subnormal a GH, y en un 36%, un hipotiroidismo manifiesto o compensado. El 100% de los pacientes estudiados presentaba anomalías en el patrón nocturno de secreción espontánea de GH. El mecanismo molecular responsable de estas alteraciones se desconoce por el momento.

La anemia de Fanconi se clasifica en ocho grupos diferentes en función del complemento celular (A-H) asociado. Probablemente, la anomalía genética presente en cada uno de los grupos es específica y diferente para cada uno de ellos. El gen afectado ha sido identificado en los grupos A, C, D2, E, F y G, y se sabe que todas las proteínas afectadas intervienen en la misma cascada de señalización.

El espectro de mutaciones caracterizadas hasta el momento en el grupo G, el más estudiado, es muy heterogéneo, incluyendo mutaciones de sentido equivocado (*missense*), y mutaciones que afectan los puntos de conexión entre exones e intrones (*splice site mutations*). No obstante, el espectro de dichas mutaciones sugiere la existencia de un dominio carboxiterminal en la FANCG que parece ser imprescindible para la complementación de las células FA-G y para el correcto ensamblaje del complejo proteico formado por FANCA/FANCG/FANCC. Asimismo, se sabe que el gen implicado en el grupo D (*FANCD*) está localizado en el cromosoma 3 (3p22-26).

6.2.6. Síndrome de Bloom

Se transmite de forma AR y se caracteriza por un crecimiento armónico prenatal y posnatal deficientes. Cursa con exantema telangectásico facial, hipersensibilidad a la luz, hipo e hiperpigmentación de la piel y predisposición a malignidad.

Aunque el gen responsable, *BLM*, ha sido localizado en el brazo largo del cromosoma 15 (15q26.1) mediante clonación posicional, el mecanismo responsable de la deficiencia de GH está aún por aclarar.

6.2.7. Síndrome de Aarskog (displasia faciogenital)

Talla baja, hipertelorismo y anomalías del escroto, junto con macrocefalia y anomalías faciales y esqueléticas, son las principales características de este síndrome que presenta un patrón de transmisión hereditario ligado al X.

Parece ser causado por mutaciones en el gen *FGD1* (***F**acio-**G**enital **D**ysplasia*) (Xp11.21), codificante de una proteína mediadora de la traducción de señales necesarias para el crecimiento durante el desarrollo.

Estudios recientes sobre los patrones de expresión de FGD1 realizados en el ratón, han demostrado que el gen *FGD1* se expresa preferentemente en tejido esquelético, más concretamente en el pericondrio, condrocitos y fibroblastos de la cápsula articular. La inducción de la expresión de FGD1 es coincidente en el tiempo con el comien-

zo de la osificación, lo que sugiere que dicho gen desempeña una función relevante en el proceso de formación de los huesos.

6.3. Resistencia a la acción de la hormona de crecimiento (GH)

En el año 1966, Laron *et al.* publicaron un estudio sobre tres hermanos con las características clínicas y bioquímicas típicas de las que acontecen en los pacientes con deficiencia de GH y que, sin embargo, presentaban niveles circulantes de GH extremadamente elevados. Con posterioridad, los mismos autores diagnosticaron 22 pacientes más con un cuadro clínico similar. Dichos pacientes eran de origen étnico judío oriental.

El diagnóstico de resistencia a la GH se establece cuando, ante la existencia de un cuadro clínico de hipocrecimiento armónico con velocidad de crecimiento enlentecida, se detectan niveles plasmáticos normales o elevados de GH, con niveles muy disminuidos o indetectables de IGF-I. La administración exógena de GH es incapaz de incrementar los niveles plasmáticos de IGF-I.

En 1984 se pudo demostrar que la resistencia a GH se debía a la existencia de anomalías en el receptor de GH. La posterior clonación y caracterización del gen codificante del receptor de GH, junto con el desarrollo de nuevas técnicas de biología molecular, han permitido la identificación de una amplia serie de alteraciones moleculares en este gen. En el año 1993 se establecieron por consenso normas para la nomenclatura, así como criterios taxonómicos para el síndrome de resistencia o insensibilidad a GH. Las denominaciones más frecuentes son las de síndrome de Laron, síndrome de resistencia primaria a GH, o insensibilidad primaria a GH, para de esta forma diferenciarlas claramente de los síndromes de resistencia secundaria a GH.

Hasta la fecha, son numerosos los pacientes que han sido diagnosticados. El análisis genético ha demostrado un patrón de transmisión mendeliano AR. El cuadro clínico de los pacientes es similar al de los afectados por la deficiencia aislada de GH. El cabello es escaso, la cabeza aparenta ser demasiado grande debido a la falta de desarrollo de los huesos faciales, así como acromicria. No obstante, el diámetro craneal es inferior al normal. El conjunto resultante es característico con frente abombada, nariz aplanada, y mentón pequeño. En el caso de no recibir tratamiento, hecho que ocurre en la mayoría de estos pacientes, la talla adulta suele situarse entre los 119 y 142 cm en varones y 108 y 136 cm en mujeres.

El gen del receptor de GH se localiza en el brazo corto del cromosoma 5 (p13-p12). Consta de 9 exones y tiene una extensión de 87 kb. El receptor consta de 620 aminoácidos y de una secuencia señal de 18 aminoácidos. Los exones 2 al 7 codifican el dominio extracelular de 246 aminoácidos. El exón 8 corresponde al dominio transmembrana de 24 aminoácidos. Por último, los exones 9 y 10 corresponden al dominio intracelular que consta de 350 aminoácidos.

El receptor de GH pertenece a la superfamilia de receptores de citokinas que, a diferencia de los receptores de insulina, no poseen actividad tirosina kinasa. Sin embargo, están íntimamente asociados con proteína kinasas codificadas por otros genes. En el caso del receptor de GH, la kinasa implicada es Janus 2 (JAK2). La unión al receptor de GH tiene como consecuencia la autofosforilación de JAK2 y la fosforilación del receptor de GH, previa asociación de JAK2 con el mismo.

La cascada de señalización intracelular incluye la activación de la MAPK (***M**itogen **A**ctivating **P**rotein **K**inase*) y de factores de trascripción latentes conocidos como proteínas STAT (***S**ignal **T**ranslators and **T**ranscription **A**ctivators*). Recientemente, se ha descrito el primer caso en patología humana de hipocrecimiento armónico debido a una mutación en la enzima STAT5b.

En efecto, Kofoed *et al.* han descrito un paciente de origen argentino de padres consanguíneos con una mutación de sentido equivocado en homocigosis en el dominio SH2 -exón 15- del gen *STAT5b*, con un único cambio de un nucleótido que conduce a la sustitución de una molécula de prolina por otra de alanina en posición 630 (A630P), siendo los padres heterocigotos para dicha mutación. Dicha mutación representa una anomalía molecular posreceptor en la cascada de señalización de GH, que genera un cuadro clínico de resistencia a la acción de GH, deficiencia de IGF-I, grave retraso de crecimiento prenatal y posnatal, así como inmunodeficiencia.

Al final de la cascada de señalización se produce la modulación de la trascripción de genes específicos, tales como los que codifican para IGF-I e IGFBP-3, entre otros.

6.3.1. Forma clásica de resistencia a GH del tipo I

La forma clásica de resistencia a GH, tipo Ia, se debe a una mutación en el gen del receptor de GH. Hasta la fecha, se han descrito numerosas mutaciones de distintos tipos (*nonsense, frameshift* y *splicing site*) que afectan tanto a secuencias exónicas como intrónicas. La mayoría de las anomalías se localizan en el dominio extracelular del receptor (exones 3 al 7 e intrones 3 al 7) y tienen como consecuencia una carencia total de GHBP circulante. Hay relativamente pocos casos descritos de anomalías localizadas en el dominio transmembrana (exón 8) o intracelular (exón 10).

La evidencia de bajos niveles séricos de GHBP en familiares de pacientes afectados por el síndrome de Laron ha contribuido a identificar a portadores heterocigotos de anomalías en el dominio extracelular del receptor de GH. Por el contrario, niveles normales o elevados de GHBP en pacientes con el síndrome de Laron sugieren la existencia de anomalías en el dominio transmembrana o intracelular, o bien un defecto molecular posreceptor (síndrome de Laron tipo b o tipo c).

La existencia de manifestaciones patológicas en portadores heterocigotos de anomalías en el gen del receptor de GH es aún controvertida. Laron *et al.*, y Rosenbloom *et al.*, tras el estudio de un numeroso grupo de pacientes afectados por el síndrome de Laron, establecieron que sólo un número muy bajo de portadores heterocigotos presentaban una estatura inferior al tercer percentil. Sin embargo, datos publicados por Attie *et al.*, y Goddard *et al.*, sugieren que los portadores heterocigotos de mutaciones en el dominio extracelular del receptor de GH son individuos de estatura baja, que pudieran responder al tratamiento con dosis elevadas de GH y que, presumiblemente, padecerían un "síndrome de resistencia parcial a la acción de GH".

6.3.2. Anomalías posreceptor de GH

La primera familia con este tipo de anomalía fue descrita en el año 1993. El test de estimulación por IGF-I no produjo respuesta a pesar de existir una elevación de IGBP-3, lo que demostraba que la vía de señalización para IGFBP-3 no estaba afectada. Se desconoce por el momento la causa primaria de esta anomalía.

6.3.3. Anomalías en el gen de IGF-I

Recientemente, Woods *et al.* han descrito el caso clínico de un varón hijo de padres consanguíneos de estatura extremadamente baja, que presentaba una deleción homocigota de los exones 4 y 5 del gen de *IGF-I*. El paciente mostraba un acusado retraso mental, perímetro craneal pequeño, acromicria, hipogonadismo, sordera neurosensorial bilateral, retraso en el desarrollo motriz, hipoglucemia durante la infancia, niveles altos de GH en suero (94 ng/ml) y niveles séricos bajos de IGF-I, insensibles a la administración exógena de GH.

6.3.4. Anomalías en el gen de IGFALS

Más recientemente, Domené *et al.* describen el caso de un paciente adoptado a la edad de una semana de vida, con un peso y una longitud en ese momento de 2.500 g y 47 cm, respectivamente, que ha presentado un desarrollo neurológico y psicomotor normales, y que fue estudiado endocrinológicamente a la edad de 14 años y 6 meses por presentar talla baja armónica (-2,37 DE), micrognatia y obesidad troncular, mostrando un retraso en su maduración ósea de dos años. Aunque la respuesta a las pruebas de estimulación de GH fue normal-alta, los valores de IGF-I e IGFBP-3 resultaron muy bajos. El estudio molecular del gen *IGFALS* (16p13.3) en sus exones 1 y 2 evidenció una deleción de una de cinco guaninas consecutivas en posiciones 1334-1338. Esta mutación por error de lectura genera una sustitución de lisina por ácido glutámico en el codón 35 y la apariencia de un codón de detención prematuro en la posición 120 de la forma precursora de la subunidad ácido lábil (1338delG, E35fsX120). Presumiblemente, el paciente es homocigoto para esta mutación, no pudiendo precisarse más al no disponer de DNA de sus progenitores. Estos hechos conducen a especular, que no a demostrar, debido a que se trata de un caso único en la literatura mundial, que la ausencia de la proteína ALS pudiera dar lugar a un crecimiento armónico insuficiente, retraso en el co-

mienzo y progresión lenta de la pubertad, así como un cierto grado de resistencia a la insulina.

6.3.5. Anomalías en el gen del receptor de IGF-I

El planteamiento de la hipótesis de que algunos de los casos de pacientes con retraso de crecimiento intrauterino pudieran deberse a mutaciones en el gen del receptor de *IGF-I (rIGF-I)*, generando un crecimiento deficiente tanto prenatal como posnatalmente, ha conducido a que, recientemente, Abuzzahab *et al.* hayan descrito dos pacientes singulares; el primero, nacido de una pareja sin consanguinidad, tras 38 semanas de gestación, con peso de 1.400 g, y talla de 134,1 cm (-4,8 DE) a los 14 años de edad, mostrando una mutación en el exón 2 del rIGF-I de dos pares de bases en el codón para el aminoácido 108 (CGG a CAG) y en el codón para el aminoácido 115 (AAA a AAC); el segundo, nacido de embarazo a término y parto sin complicaciones con peso al nacimiento de 2.000 g y longitud de 40 cm (-5,8 DE), mostrando una mutación de punto en heterocigosis (CGA a TGA -Arg59stop-) en el exón 2 del rIGF-I. Estos dos pacientes han establecido que las anomalías moleculares en el receptor de IGF-I conducen a un fenotipo clínico dominado por el hipocrecimiento armónico prenatal y posnatal. Aunque la incidencia de dichas mutaciones es presumiblemente escasa, aún se ignora la frecuencia en diferentes tipos de poblaciones.

6.3.6. Pigmeos

Los pigmeos parecen tener un número disminuido de receptores de GH, lo que se considera la causa primaria del fenotipo. En una revisión reciente, Merimee y Laron concluyen que la talla baja de los pigmeos africanos se debe principalmente, y con toda probabilidad exclusivamente, a una deficiencia de IGF-I como consecuencia de la reducción en el número de receptores de GH.

Dado que los pacientes con síndrome de Laron presentan estatura y concentraciones de IGF-I inferiores a los pigmeos, se especula con que los pigmeos puedan presentar una anomalía genética diferente y menos compleja. El conjunto de alteraciones metabólicas es consistente con una disminución del número de receptores de GH asociado a un descenso de los niveles circulantes de GHBP, lo que sugiere la posible existencia de anomalías en el dominio externo del receptor de GH.

6.4. Anomalías de los cromosomas sexuales

Existen al menos 8 genes localizados en la región pseudoautosómica (PAR1) del brazo corto de los cromosomas sexuales. La región PAR1 tiene una extensión de 2.500 kb y su secuencia en los cromosomas X e Y es homóloga en un 99%. La asociación entre un fenotipo de talla baja y la presencia de delecciones en el brazo corto de los cromosomas X o Y, sugirió en el pasado la posible presencia de un gen regulador de la estatura en la porción distal de 700kb de PAR1.

El gen *SHOX* (***S****hort stature* ***H****ome****O****bo****X****-containing gene*) ha sido clonado y aislado a partir de los 170 kb que constituyen la región crítica de PAR1. Este gen codifica dos proteínas de 292 (SHOXa) y 225 (SHOXb) aminoácidos, respectivamente. En 36 pacientes con talla baja y que presentan reorganizaciones en Xp22 o Yp11.3, se ha podido comprobar que *SHOX* no se expresa correctamente. Rao *et al.* hallaron una mutación de sentido equivocado (*missense*) en el gen *SHOX* de 91 pacientes con talla baja idiopática, sin ninguna otra sintomatología aparente. La misma mutación fue descrita en otros cuatro miembros de la misma familia, completando un total de tres generaciones afectadas por talla baja idiopática. La causa de la talla baja en el síndrome de Turner podría tener su origen, al menos en parte, en la pérdida del gen *SHOX*, como consecuencia de la ausencia de un cromosoma X. Asimismo, el gen *SHOX* es responsable de las anomalías esqueléticas presentes en el síndrome de Turner. Recientemente, se ha demostrado que algunos pacientes afectos de síndrome de Léri-Weill y enanismo mesomélico de Langer presentan haploinsuficiencia del gen *SHOX*.

Asimismo, la identificación de pacientes con talla baja y deleción del brazo largo del cromosoma Y (46, XY, Yq-) habla en favor de la posible presencia en dicho brazo de uno o más genes reguladores del crecimiento. Las correlaciones clínico-moleculares observadas en pacientes varones con delecciones parciales de Yq han permitido la localización

de un gen llamado *GCY* (***G**rowth **C**ontrol in the **Y***, también conocido como *growth specific gene in the Y chromosome*) en Yq, próximo al centrómero.

El estudio molecular de la translocación cromosómica [X;Y (46,X,der[X]t[X;Y][p22.3;q11.2])], en una mujer con estatura normal que presentaba una deleción en la región pseudoautosómica (Xp22.3), sugiere que el gen *GCY* en Yq puede, al menos parcialmente, compensar el déficit de crecimiento causado por la ausencia del gen *SHOX*.

Es muy probable que existan otros genes moduladores del crecimiento en los cromosomas sexuales, aún no identificados.

6.5. Otras causas de origen prenatal

Las causas de retraso en el crecimiento intrauterino son multifactoriales y muy complejas, incluyendo deficiencias nutricionales, exposición a agentes tóxicos, deficiencias placentarias, anomalías cromosómicas y otras alteraciones genéticas.

El hipocrecimiento primordial constituye un retraso en el crecimiento de origen prenatal que continúa durante el periodo posnatal. Se subdivide en dos grandes grupos en función de si se encuentra o no asociado a microcefalia.

Una forma específica de hipocrecimiento primordial no asociado a microcefalia es el síndrome de Silver-Russel. Presenta un fenotipo cráneo-facial característico, con rostro triangular, orejas prominentes, posible asimetría de las extremidades y clinodactilia del quinto dedo. La causa del síndrome es presumiblemente heterogénea y la mayoría de los casos conocidos se deben, probablemente, a mutaciones dominantes *de novo*. Se ha postulado la posible participación de un locus localizado en 17q25 debido a la recurrencia de anomalías en dicho cromosoma. Sin embargo, el primer indicio sólido sobre la base molecular del síndrome de Silver-Russel se obtuvo a partir de la observación de una disomía materna uniparental del cromosoma 7 en un paciente con una mutación homocigota que produce fibrosis quística, para la que la madre era exclusivamente portadora. Dicho paciente, al igual que otros descritos posteriormente, presentaba un retraso del crecimiento intrauterino y crecimiento posnatal que no podía justificarse por la fibrosis quística. La disomía materna uniparental del cromosoma 7 ha sido confirmada posteriormente en un 10% de los pacientes con hipocrecimiento primordial del tipo asociado al síndrome de Silver-Russel.

Dichas observaciones indican la existencia en el cromosoma 7 de uno o más genes que actúan como reguladores del crecimiento y que pueden sufrir impronta gamética. Podría tratarse tanto de genes estimulantes del crecimiento expresados exclusivamente por el cromosoma paterno, como de genes inhibidores del crecimiento, expresados exclusivamente por el cromosoma materno. La observación de un caso familiar de síndrome de Silver-Russel en donde, tanto la madre como la hija presentaban una duplicación en tándem en la región 7p13-p11.2, ha permitido acotar la región crítica del cromosoma 7 a un segmento que incluye los genes de *IGFBP1*, *IGFBP3* y *GRB10* (***G**rowth factor **R**eceptor **B**inding protein **10***).

La caracterización molecular de un segundo paciente, descrito posteriormente, con una duplicación similar, demostró que los genes mencionados anteriormente se encontraban de hecho englobados en la región afectada y que la región duplicada era de origen materno. Por consiguiente, es muy probable la existencia en dicha región del cromosoma 7 de uno o más genes inhibidores del crecimiento que son expresados exclusivamente por el cromosoma materno. Un incremento en la expresión de este/os gen/es causado por una disomía uniparental materna o bien por duplicaciones maternas de la región crítica, causaría un retraso del crecimiento.

El gen *GRB10* es un candidato óptimo por diferentes razones; a saber:

1. Se encuentra englobado dentro de la región crítica afectada por las duplicaciones.

2. El gen homólogo del ratón (*meg1/Grb10*, cromosoma 11) se expresa exclusivamente por el cromosoma materno.

3. Está probablemente implicado en los defectos del crecimiento observados en ratones con duplicaciones del cromosoma 11 y deficiencia recíproca.

La función conocida de la proteína GRB10 habla en favor de un papel regulador del crecimiento para la misma. La unión de la GRB10 al receptor de insulina y al receptor de IGF-I mediante un dominio SH2, inhibe la actividad tirosina kinasa asociada al receptor y, a su vez, implicada en las ac-

ciones promotoras del crecimiento de la insulina, IGF-I e IGF-II.

7. Cambios evolutivos en el patrón de crecimiento

Desde la aparición de los primeros primates con los rasgos característicos de la especie humana, tanto la talla como las relaciones entre los distintos segmentos corporales, y el *tempo* del crecimiento o ritmo madurativo han sufrido cambios que son el resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales. La relación entre ambos factores no es simplemente aditiva, sino mucho más compleja y, por tanto, la responsabilidad de unos y otros en las diferencias observadas en distintas poblaciones, en individuos de la misma comunidad o incluso de la misma familia, son difíciles de establecer. Variaciones que a primera vista parecen debidas a influencias exógenas reflejan diferencias genéticas y, por el contrario, algunas de las denominadas peculiaridades étnicas son en realidad expresión de influencias encubiertas del ambiente.

Un ejemplo bien conocido de esta adaptación ha sido el crecimiento de los japoneses que viven en distintas áreas geográficas. En 1957, Greulich demostró que los niños japoneses que vivían en Los Ángeles eran más altos que los de Japón, y concluyó que las diferencias raciales eran debidas, en gran parte, a la diferencia de la alimentación y otros factores exógenos. A partir de 1950, el incremento de la talla media en Japón ha eliminado las diferencias y en la actualidad los japoneses que viven en Japón, Hawai y California no tienen diferencias significativas entre ellos, pero siguen mostrándolas frente a los californianos y hawaianos descendientes de africanos y europeos, situándose su talla media en el percentil 15 de los estándares británicos.

La interacción herencia-ambiente responsable de los cambios del patrón de crecimiento no afecta solamente al crecimiento en longitud sino a las relaciones segmentarias, a la composición corporal y al denominado coeficiente de linealidad, es decir, a la relación entre la longitud de los miembros y la altura total. La selección natural favoreciendo la supervivencia del mejor adaptado, ha hecho que el hábito corporal de los individuos de color africanos y los esquimales sea llamativamente diferente. En las zonas tropicales, la ventaja adaptativa la tendría el individuo con miembros largos y poca grasa, mientras que en las regiones árticas, se defiende mejor el que es capaz de ahorrar calor mediante un sistema de aislamiento térmico y una reducida superficie de irradiación; es decir, el que posee miembros cortos, un hábito macizo y abundante panículo adiposo.

7.1. Evolución de la talla humana y tendencia secular

De acuerdo con las opiniones más ampliamente aceptadas por los antropólogos, el *Australopithecus*, que es el primer primate que alcanzó la bipedestación, es el antecesor inmediato del género Homo, del que se originó la especie humana, *Homo sapiens*, hace unos 300.000 años.

En la **Tabla 3**, adaptada de Garralda y Styne, se recoge la talla de los homínidos desde su aparición hace aproximadamente 3.000.000 de años.

Se observa que algunos de nuestros ancestros habían alcanzado una talla similar a la actual hace ya más de un millón de años. Además, el avance más importante se produce en la transición de las especies más primitivas, *Homo habilis* al *Homo erectus*, y coincide con el aumento significativo del peso del cerebro, que hizo posible la adquisición de avances tecnológicos, como el fuego, el perfeccionamiento de las técnicas de caza, el ensansanchamiento del nicho ecológico y una mayor eficiencia de la termorregulación y de la utilización de los alimentos.

A partir de este momento, persiste una gran variabilidad de la talla, igual que en la actualidad, y se producen cambios sucesivos en una u otra dirección, motivados por las condiciones ambientales y la ecosensibilidad individual.

En este contexto, la denominada tendencia secular, es decir, los cambios observados en los países industrializados y también en algunos países en vías de desarrollo, durante los últimos 100 años, sería el episodio más reciente de un proceso evolutivo en el cual a partir de los primitivos homínidos, la selección natural ha favorecido la persistencia y expansión de los individuos más adaptados en cada momento a las condiciones ambientales. Unas veces lo han sido los más altos, mientras que en otras las mejores posibilidades las han tenido los de tallas más bajas.

Tabla 3. EVOLUCIÓN DE LA TALLA EN LOS HOMÍNIDOS (ADAPTADA DE STYNE Y Mc HENRY, Y GARRALDA)

Especie	Talla (cm)		Edad de los fósiles (años)
	Varones	Mujeres	
A. afarensis	151	105	3-4 millones
A. africanus	136	115	2,4-2,8 millones
H. habilis	157	100	2-2,4 millones
H. erectus	180	160	1,6 millones
H. sapiens neanderthalensis			1.120.000-35.000
• África occidental	170	157	
• Europa	167	160	
H. sapiens sapiens primitivos			
• África occidental	184	169	300.000
• Europa	184	167	100.000
H. sapiens sapiens actual	177	163	100.000

7.2. Características de la tendencia o cambio secular

El hecho esencial ha sido el aumento progresivo de la talla y la aceleración de la maduración, pero éstos han ido acompañados de un proceso de remodelación morfológica, debido al crecimiento relativamente más intenso de los miembros inferiores. Asimismo, se ha observado un aumento de la relación peso/talla y del grosor del pliegue cutáneo.

En términos cuantitativos, se estima que en Norteamérica y en la mayoría de los países europeos, durante el periodo de 1880-1980, ha sido de 2-3 cm por década en la adolescencia, como consecuencia del aumento del ritmo madurativo, de 1 a 2 cm en la etapa prepuberal y de 1 cm o ligeramente inferior para la talla adulta. La aceleración de la maduración ha hecho que la edad de la menarquia haya ido descendiendo 3 o 4 meses por década en la mayoría de los países europeos desde 1860 hasta 1960.

Junto a esta tendencia hacia tallas más altas y ritmos madurativos acelerados se han observado cambios en el sentido opuesto, coincidiendo con situaciones adversas, como sucedió en Japón, Alemania y Rusia durante la última guerra. Este carácter no irreversible sino bidireccional ha hecho que algunos autores prefieran denominar a este fenómeno "cambio secular", denominación que no prejuzga el sentido de las modificaciones.

Las causas del cambio o tendencia secular no están completamente aclaradas; una mejor nutrición, el control de las enfermedades infecciosas en la primera infancia, la disminución del número de hijos, la mejor calidad de los servicios médicos y una mayor movilidad, tanto entre países y áreas geográficas, como dentro del mismo país entre las zonas rurales y las ciudades, son factores que han contribuido, si bien no explican completamente el proceso.

El hecho de que poblaciones de distinto origen, conviviendo en el mismo lugar y en parecidas condiciones sufran cambios seculares distintos e incluso de sentido opuesto, conduce a que la explicación de que la tendencia o cambio secular del crecimiento es simplemente una respuesta, basada en la ecosensibilidad individual a los cambios en el nivel o grado de bienestar, sea insuficiente, y haya que inscribirla en el marco mucho más amplio de los cambios evolutivos observados a lo largo de la historia filogenética de la especie humana.

7.3. Interpretación de los cambios en el patrón de desarrollo

Es muy difícil interpretar las consecuencias de estos cambios y no existe una respuesta satisfactoria a la pregunta de si ser más alto y madurar más deprisa es o no una ventaja, ya que los datos epidemiológicos son contradictorios.

Es un hecho suficientemente probado que la tendencia secular en los países en que se ha producido, ha ido acompañada de un aumento de la esperanza de vida, y que los recién nacidos a término con una talla superior tienen un índice más bajo de mortalidad y morbilidad que los de menor talla.

Un estudio amplio realizado por Waaler en Noruega demostró la relación entre la talla adulta y la mortalidad en distintas edades a partir de los 20 años, observándose una disminución de la mortalidad a medida que aumentaba la talla hasta que ésta era superior a 1,90 m en los varones y 1,80 m en las mujeres.

Por otra parte, los resultados de algunas encuestas sociológicas demuestran que los individuos más altos ocupan mejores puestos en la sociedad, lo que parece probar que existe una correlación positiva entre crecimiento en longitud, eficacia y éxito social. Sin embargo, estas diferencias no pueden ser atribuidas exclusivamente a la diferencia de talla sino a un fenómeno de endogamia en las clases sociales, que solamente se permeabilizan para aceptar individuos de una clase inferior cuando éstos tienen una capacidad intelectual y una talla superiores a la media del grupo del que proceden. Por eso, a medida que va desapareciendo la diferencia de estatura entre los miembros de los distintos estratos sociales, este fenómeno se ha diluido y es más difícil de observar.

Junto a estos datos existen otros contradictorios, como la mayor incidencia de algunos tipos de cáncer de mama en las mujeres más altas y con pesos superiores, siendo la correlación más significativa a medida que aumenta la edad ($r = 0,72$ y $0,75$ para la talla y el peso, respectivamente, a los 18 años).

En cualquier caso, lo que parece evidente es que, dentro de los límites de la normalidad, la talla no es el factor crítico, sino que tienen más importancia las causas que han conducido a que un individuo no haya podido realizar el patrón de crecimiento determinado genéticamente, ya que muchas de estas causas -desnutrición, bajo nivel cultural, abandono, enfermedades crónicas-, además de dificultar el crecimiento somático, pueden ser responsables de alteraciones orgánicas o funcionales trascendentes para el desarrollo intelectual y la adaptación social. Es a estas causas a las que hay que dirigir la atención y no a la talla baja, que debe ser considerada, en estos casos, simplemente como el marcador de unos cuidados insuficientes o inadecuados durante los primeros años de vida. La talla baja constitucional o genética, sin patología subyacente, constituiría simplemente un rasgo fenotípico sin ninguna significación pronóstica.

8. Resumen

- El crecimiento es un fenómeno cuantitativo que puede expresarse matemáticamente por una relación simple de incremento de la masa en función del tiempo, mientras que el desarrollo es un fenómeno cualitativo, que acompaña, pero no marcha al mismo ritmo que el proceso de crecimiento, con el que incluso en ocasiones muestra un cierto antagonismo. El patrón de crecimiento humano está representado por una curva caracterizada por dos periodos de crecimiento rápido, con sus fases de aceleración y desaceleración, separados por un periodo de crecimiento estable. El primero de estos ciclos de crecimiento acelerado corresponde al periodo fetal y los primeros meses de vida extrauterina, y el segundo al estirón de la pubertad. Entre ambos, a la edad de 7 años, se observa un incremento ligero de la velocidad, que afecta preferentemente a los miembros y coincide con la adrenarquia.

- Los métodos para la valoración de la maduración ósea incluyen fundamentalmente el atlas de Greulich y Pyle y los métodos numéricos de Tanner Whitehouse. Junto a ellos, nuestro grupo ha aportado un atlas, un método numérico basado en el TW2-RUS y un método original (método SHS) para valorar la maduración ósea en los dos primeros años de vida. Dicho método posee la ventaja de que los modelos de radiografías y los estándares corresponden a una muestra más representativa de la población actual de nuestro país.

- La **diferenciación** consiste en la generación, a partir de una célula pluripotente e indiferenciada, de grupos de células especializadas, que se agrupan posteriormente para constituir tejidos y órganos que se rigen por grupos independientes de factores reguladores. La **morfogénesis** es el proceso de remodelación morfológica que sigue a la diferenciación; a través de él se forman las hojas germinativas, se diferencian los órganos y, finalmente, se configura la forma definitiva del organismo.

- La primera infancia es un periodo de crecimiento rápido que comprende los 2 primeros años de la vida extrauterina. Se trata de un periodo de crecimiento acelerado, que se va enlenteciendo desde el nacimiento. El periodo preescolar y escolar conforman la fase de crecimiento estable, extendiéndose desde los tres años hasta el comienzo del estirón puberal. El crecimiento está regulado por factores determinantes (genéticos), permisivos (nutrición, psicosociales, ambientales), reguladores (hormonales) y realizadores (esqueleto).

- Las bases moleculares del hipocrecimiento armónico son extraordinariamente complejas, habiéndose demostrado al menos la existencia de 25 genes involucrados en su regulación. Las mutaciones de los mismos pueden conducir a un cuadro clínico de deficiencia aislada de GH (*GH1*, *rGHRH*, *BTK*), deficiencia combinada de hormonas hipofisarias (*POU1F1*, *PROP1*, *LHX3*, *LHX4*, *HESX1*), alteraciones embriológicas y deficiencia de GH (*ZIC2*, *Sonic Hedgehog*, *SIX3*, *TGIF*, *PITX2*, *RIEG2*, *EEC1*, *EEC2*, FANCA-G, *FGD1*, entre otros), resistencia a la acción de GH (*rGH*, *STAT5b*), deficiencia de IGF-I por anomalías posreceptor (*IGF-I*, *IGFALS*, *rIGF-I*), insuficiencia o haploinsuficiencia del gen *SHOX* y, presumiblemente, por mutaciones del gen *GRB10*.

9. Bibliografía

Abuzzahab MJ, Scheneider A, Goddard A, et al. IGF-I receptor mutations resulting in intrauterine and posnatal growth retardation. N Engl J Med 2003; 349: 2211-22.
Artículo reciente en el que se describen los dos pacientes conocidos con mutaciones en el receptor de IGF-I.

Argente J, Carrascosa A, Gracia R, Rodríguez-Hierro F. Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia, 2ª ed. Doyma. Barcelona, 2000.
Tratado general de Endocrinología infantil, con una sección constituida por 16 capítulos dedicados al desarrollo de las bases fisiopatológicas y moleculares del hipocrecimiento humano.

Argente J, Pérez-Jurado LA, Sotos JF. Molecular bases of human growth. J Endocr Genet 2000; 1: 179-210.
Revisión detallada sobre las bases moleculares del hipocrecimiento armónico, hipocrecimiento disarmónico e hipercrecimiento humanos.

Campos A, Argente J. Alteraciones genéticas en los déficit de hormona de crecimiento (GH). An Ped Cont 2004; 2: 31-5.
Artículo en el que se revisan de forma detallada y actualizada los conocimientos relativos a las bases genéticas de la deficiencia en hormona de crecimiento.

Domené HM, Bengolea SV, Martínez AS, et al. Deficiency of circulating insulin-like growth factor system associated with inactivation of the acid-labile subunit gene. N Engl J Med 2004; 350: 570-7.
Artículo reciente en el que se describe en detalle el único paciente conocido con una mutación en el gen de *IGFALS*.

Greulich WW, Pyle SI. Radiographic Atlas of Skeletal Development of The Hand and Wrist, 2nd ed. Stanford University Press. Stanford, California, 1959.
Atlas de radiografías de la mano y muñeca izquierdas para niños y niñas en el que puede valorarse de forma rápida la maduración ósea de un paciente en un momento determinado.

Hernández M, Argente J. Human growth: Basic and Clinical Aspects. Ed. Excerpta Medica. Amsterdam, 1992.
Libro en el que se analizan en detalle los aspectos más relevantes relacionados con el crecimiento y la nutrición.

Hernández M, Castellet J, Narvaíza JL, Rincón JM, Ruiz E, Sánchez E, et al. Curvas y tablas de crecimiento. Instituto de investigación sobre crecimiento y desarrollo. Fundación Faustino Orbegozo. Garsi. Madrid, 1988.
Tablas y curvas de crecimiento, obtenidas mediante estudio longitudinal de crecimiento, que representan las de más amplia difusión en España.

Hernández M, Sastre A. Tratado de Nutrición. Ed. Díaz de Santos. Madrid, 1999.
Libro que analiza en detalle las bases conceptuales y fisiológicas de los nutrientes, así como los fundamentos clínicos de la nutrición humana.

Hernández M, Sánchez E, Sobradillo B, Rincón JM. Maduración ósea y predicción de talla. Atlas y métodos numéricos. Díaz de Santos. Madrid, 1991.
Libro que permite el cálculo de la maduración ósea tomando como referencias estándares de nuestro medio, tanto en la mano y muñeca izquierdas a lo largo de la infancia y adolescencia, como en el tobillo (método SHS) en los niños menores de dos años.

Karlberg J. A biologically-oriented mathematical model (ICP) for human growth. Acta Paediatr Scand Suppl 1989; Suppl 350: 70-94.
Excelente artículo en el que se analiza en detalle el modelo matemático ICP para el crecimiento humano.

Kofoed EM, Hwa V, Little B, *et al.* Growth hormone insensitivity associated with a STAT5b mutation. N Engl J Med 2003; 349: 1139-47.
Artículo reciente en el que se analiza el único caso humano de hipocrecimiento armónico con inmunodeficiencia debido a una mutación en la proteína STAT5b.

Tanner JM, Whitehouse RH, Cameron N, Marshall WA, Healy MJR, Goldstein H. Assessment of Skeletal Maturity and Prediction of Adult Heigth (TW2 Method), 2nd ed. Academic Press Ltd. London, 1983.
Libro que permite un análisis detallado del cálculo de la maduración ósea y la predicción de talla adulta.

Woods KA, Camacho-Hübner C, Savage MO, Clark AJL. Intrauterine growth retardation and posnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene. N Engl J Med 1996; 335: 1363-7.
Artículo en el que se describe el primer y único caso publicado en un ser humano con una mutación en el gen de *IGF-I*.

10. Enlaces web

- www.ncbi.nlm.nih.gov/omim
- www.fundacionendo.com
- www.umich.edu/~chgdwww
- www.eddnal.com
- content.nejm.org
- www.healthcyclopedia.com/nutrition.htm
- www.science.gov

1.34. Bases biológicas del envejecimiento

José Luis Quiles Morales ■ Julio José Ochoa Herrera

Capítulo 1.34.

Bases biológicas del envejecimiento

1. Introducción

2. Vida media y vida máxima

3. Características fisiológicas del envejecimiento
- 3.1. Sistema nervioso
- 3.2. Sistema cardiovascular
- 3.3. Sistema respiratorio
- 3.4. Sistema renal
- 3.5. Sistema esquelético y muscular
- 3.6. Sistema digestivo
- 3.7. Sistema endocrino
- 3.8. Sistema inmune
- 3.9. Órganos sensoriales

4. Modelos experimentales en envejecimiento

5. Teorías del envejecimiento
- 5.1. Teorías estocásticas
- 5.2. Teorías evolutivas y genéticas

6. Estrés oxidativo, mitocondria y envejecimiento
- 6.1. La mitocondria como fuente de estrés oxidativo
- 6.2. La mitocondria como blanco del estrés oxidativo
- 6.3. Implicación de la mitocondria en el envejecimiento

7. Evolución genética y envejecimiento

8. Genes que alargan la vida
- 8.1. Estudios en *Saccharomyces cerevisiae*
- 8.2. Estudios en *Caenorhabditis elegans*
- 8.3. Estudios en *Drosophila melanogaster*
- 8.4. Estudios en mamíferos

9. Senescencia celular replicativa
- 9.1. Telómeros

9.2. Telomerasa
9.3. Otros factores que hay que considerar en la senescencia replicativa
9.4. Senescencia replicativa, envejecimiento y cáncer

10. Terapias antienvejecimiento
10.1. La nutrición como terapia antienvejecimiento
10.2. Tratamientos hormonales
10.3. Ejercicio físico
10.4. Otras sustancias

11. Resumen

12. Bibliografía

13. Enlaces web

Objetivos

- Conocer el concepto científico de envejecimiento.
- Aprender los conceptos de vida máxima y vida media e identificar sus diferencias.
- Conocer las principales alteraciones fisiológicas y patológicas que tienen lugar durante el envejecimiento.
- Revisar los diversos modelos experimentales que existen para estudiar el envejecimiento, así como identificar las posibles limitaciones de los mismos.
- Conocer las principales teorías que tratan de explicar el fenómeno del envejecimiento.
- Profundizar en el estudio, como parte de una de las teorías más aceptadas, del papel de la mitocondria como fuente de energía y de radicales libres durante el envejecimiento.
- Comprender la evolución y genética del envejecimiento, así como los genes capaces de modificar la extensión de la vida en diversas especies.
- Identificar los aspectos más importantes de la senescencia replicativa y como ésta puede influir en el proceso de envejecimiento del organismo.
- Describir el concepto de geroprotector y conocer tratamientos nutricionales, físicos y farmacológicos que pueden ser importantes desde el punto de vista de una terapia antienvejecimiento.

1. Introducción

La importancia social del envejecimiento radica tanto en el elevado porcentaje de personas mayores de 65 años (cerca del 20%) **(Figura 1)** y el aumento espectacular de individuos que superan los 80 años, como en la incidencia creciente de enfermedades crónicas como Alzheimer, Parkinson, diabetes o cáncer, relacionadas con la edad.

No existe una definición precisa y exhaustiva del término "envejecimiento". Se trata de un fenómeno común a todos los organismos multicelulares que ha sido descrito como un declive endógeno y progresivo en la eficacia de los procesos fisiológicos tras la fase reproductora de la vida. El mencionado declive ha sido atribuido tradicionalmente a un programa genético presente en todos los individuos de la especie (si bien esto está descartado en la actualidad) o bien a la acumulación estocástica de errores en las células somáticas, lo cual daría lugar a la progresiva pérdida de las funciones celulares.

El estudio del envejecimiento se enfrenta entre otros al problema que conlleva separar el proceso en sí de las enfermedades derivadas del mismo. De este modo, se debe diferenciar el envejecimiento como proceso del proceso de envejecimiento. El envejecimiento como proceso o envejecimiento normal representa los cambios fisiológicos universales e inexorables que se producen por la edad y que no están afectados por enfermedades o el entorno (p. ej., la menopausia o el declive en la función renal). Por el contrario, el proceso de envejecimiento está muy influenciado por el entorno, el estilo de vida, hábitos nutricionales y enfermedades, que a su vez están relacionadas con el envejecimiento, o cambian a causa del mismo, pero no se deben al envejecimiento en sí.

A medida que un ser vivo envejece, aumenta la probabilidad de que éste muera, llegando una determinada edad característica para cada especie a la cual todos los individuos de la misma ya han muerto. En el caso del ser humano, esta vida máxima ha sido establecida en torno a los 110-120 años. En la actualidad, hay muchos países en los cuales sólo unos pocos individuos son capaces de alcanzar la vida máxima debido a enfermedades infecciosas o como consecuencia de una nutrición pobre o inadecuada. En los países industrializados el problema es diferente. Desde 1840, las expectativas de vida han crecido a razón de aproximadamente tres meses por año, y de momento no hay signos que demuestren que esta tendencia vaya a cambiar **(Figura 2)**.

Una buena noticia es que la salud ha mejorado; sin embargo, el coste en salud ha crecido y, además, han aparecido enfermedades que hace 100 años no se conocían, como el Alzheimer, la degeneración macular asociada al envejecimiento (que es la principal causa de ceguera en la actualidad), diversas enfermedades de tipo cardiovascular, cáncer, etc. **(Figura 3)**.

Desde hace no mucho tiempo los científicos se plantean la cuestión de que si el envejecimiento es perjudicial para los individuos y aun así le ocurre a todo el mundo, ¿por qué ocurre? La respuesta podría ser que el envejecimiento es el efecto colateral de algo más. Así, los genes que retrasan el envejecimiento podrían hacerlo al reprimir la causa que genera el daño asociado al envejecimiento. Un ejemplo de lo acabado de comentar es la reproducción. La fecundidad a menudo se reduce tanto

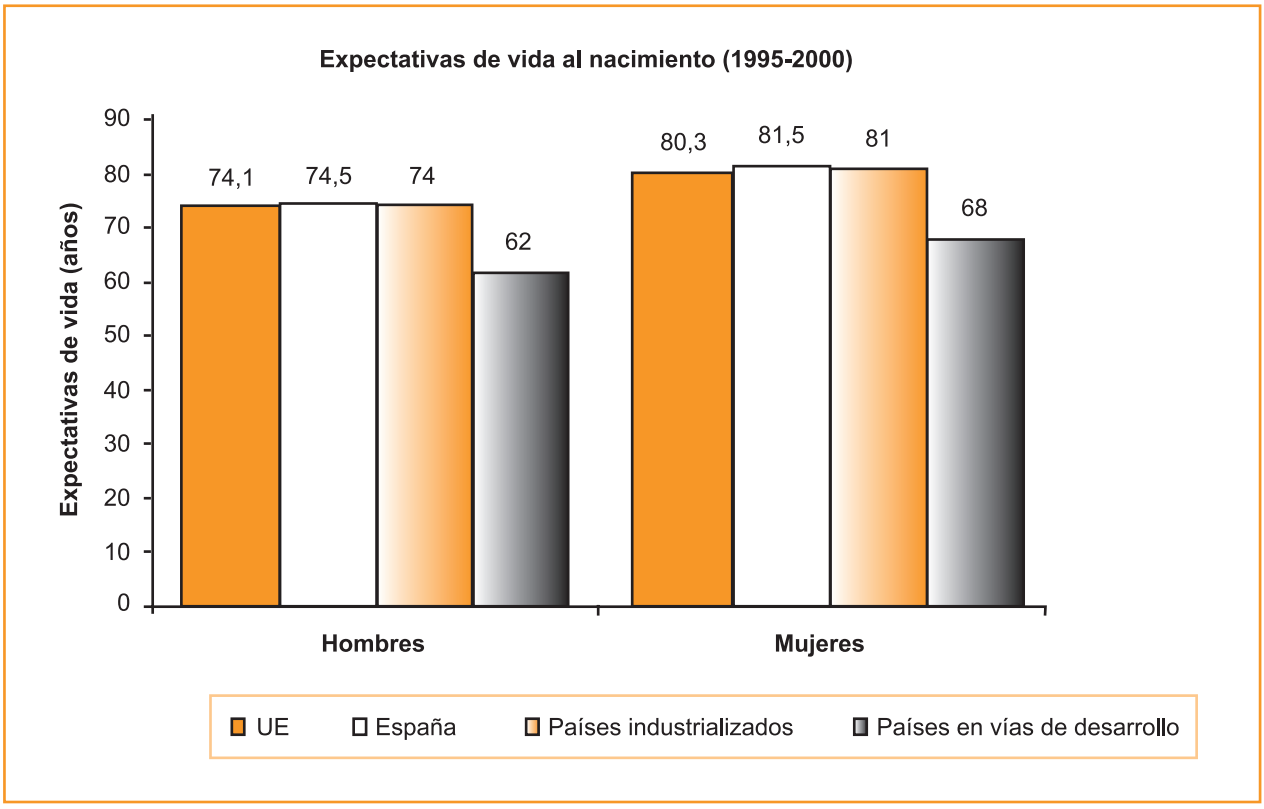


Figura 1. *Aumento en el porcentaje de individuos con más de 60 años en diferentes partes del mundo con relación a España. Fuente: INE, 2003.*

evolutivamente al disminuir el envejecimiento como mediante mutaciones simples que prolongan la vida. La comida parece ser otra fuente de daño, ya que muchos de los genes que se hallan involucrados en la reducción del envejecimiento están también implicados en la respuesta al cambio en los niveles de nutrientes. Además, se sabe que la reducción en la ingesta de alimentos disminuye el envejecimiento en una variedad de organismos que va desde las levaduras a los mamíferos.

2. Vida media y vida máxima

La vida máxima representa la edad a la que el individuo más longevo de una especie determinada ha llegado. En el caso del ser humano, ésta ha sido establecida en torno a los 110-120 años. A esta conclusión se ha llegado mediante la utilización de diversos métodos de estudio, entre los que se encuentran los testimonios históricos bien documentados (p. ej., el japonés Shigechiyo Izumi, que murió en 1986 a la edad de 120 años y 237 días, o la francesa Jeanne Calment, que murió en 1997 a la edad de 122 años).

También ha servido para conocer la vida máxima el estudio del ser humano como especie animal, comparando su longevidad con la de especies más o menos afines, o estudios sobre los límites de multiplicación de células humanas (p. ej., los estudios de Hayflick con cultivos de fibroblastos humanos) o estudios sobre la pérdida funcional de los órganos. Como curiosidad, es interesante indicar que este límite también coincide con el expresado en la Biblia: "Cuando los hombres se fueron multiplicando sobre la tierra y engendraron hijas, los hijos de Dios vieron que las hijas del hombre eran bellas, cogieron algunas como esposas y se las llevaron. Pero el Señor dijo: Mi aliento no durará siempre en el hombre; puesto que es de carne, no vivirá más que 120 años" (*Génesis*, 6, 1-3).

Por otra parte, la vida media (o expectativa de vida) es la edad a la cual el 50% de los individuos de

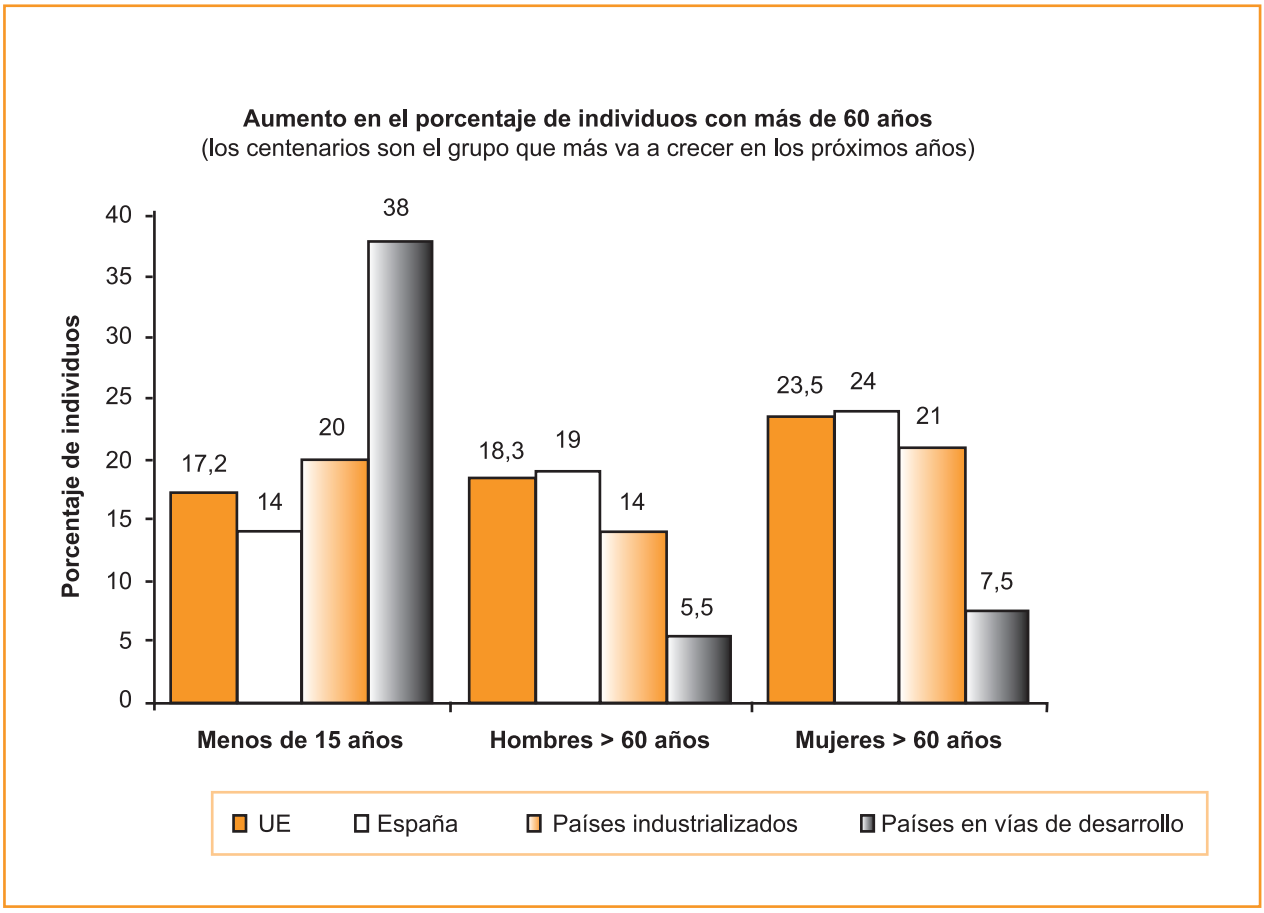


Figura 2. *Expectativas de vida al nacimiento en diferentes partes del mundo para el periodo 1995-2000. Fuente: INE, 2003.*

una especie determinada sobreviven. La vida media se ha incrementado drásticamente en el ser humano con el tiempo. Así, los humanos de hace 50.000 años raramente vivían por encima de los 40 años, encontrándose su vida media en torno a los 20 años, debido fundamentalmente a las enfermedades y a los accidentes. Sin embargo, los grandes avances en los campos de la medicina y la nutrición, entre otros, han dado lugar hoy en día a que en los países industrializados esta vida media sea al menos de 75 años. Se da la circunstancia de que la mayor

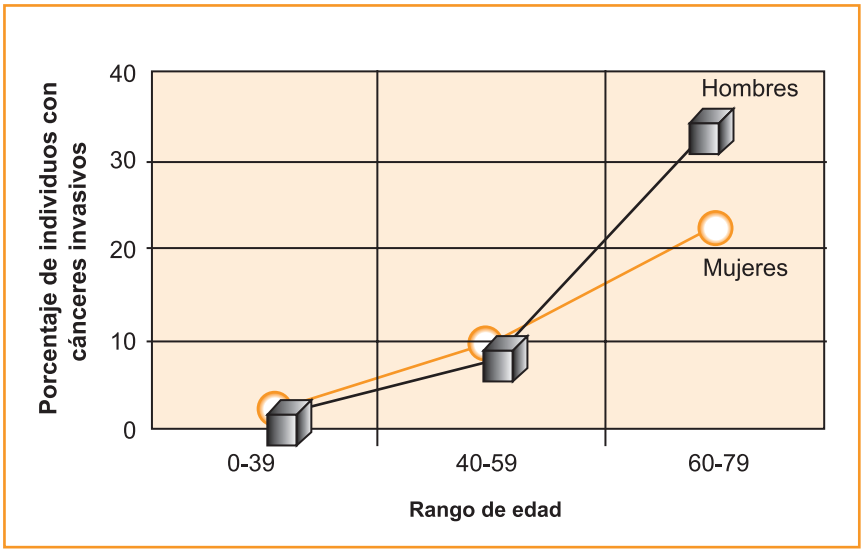


Figura 3. *Relación entre cáncer y edad. Fuente: adaptado de De Pinho.* Nature *2000; 408 (9): 248-54.*

parte de este incremento ha tenido lugar en los últimos 150 años.

Si bien, como se apuntaba en la Introducción, la expectativa de vida ha crecido de forma continuada, la vida máxima sigue manteniéndose; así, los 120 años sería la meta máxima a la que se podría llegar si se emplearan los métodos adecuados. Éste es el principal objetivo de la ciencia: el conseguir alcanzar este límite vital en las mejores condiciones físicas, mentales y emocionales, para después intentar sobrepasarlo.

3. Características fisiológicas del envejecimiento

El paso de los años va abriendo camino a la vejez y conjuntamente a la aparición de una gran variedad de cambios tanto psicológicos como fisiológicos. Hay que indicar que estos cambios, graduales y progresivos, no ocurren siempre a la misma velocidad, presentándose, además, distintos grados de afectación. Todo esto explica la gran variabilidad en el proceso de envejecimiento de cada persona (cada persona envejece a una velocidad única).

Se han observado cambios en todas las células, tejidos y órganos corporales, lo cual afecta al funcionamiento de todos los sistemas del organismo. Las células cambian de tamaño, muestran alteraciones en sus membranas, pierden su capacidad de dividirse y reproducirse, suelen presentar pigmentos y sustancias grasas en mayor proporción, se producen anormalidades en su función, etc.

Los tejidos acumulan una gran cantidad de productos de desecho (como, p. ej., la lipofucsina) y muestran alteraciones en su flexibilidad y en los mecanismos de intercambio de gases, nutrientes y desechos, pierden masa, etc. Estos cambios conllevan variaciones a nivel de órganos (disminuye su funcionalidad, si bien esto a veces pasa desapercibido, debido a que raramente se necesita un órgano a su máxima capacidad), también se alteran todos los sistemas y, en definitiva, todo el organismo.

Son numerosos los cambios físicos que se observan durante el envejecimiento. Uno de los más llamativos es el que tiene lugar con relación a la composición corporal, sobre todo, la disminución de la densidad ósea y masa magra corporal y el aumento de porcentaje de la grasa corporal. La estatura suele disminuir progresivamente.

La piel se vuelve flácida (pierde su elasticidad), aparecen arrugas y su capa externa (epidermis) pierde volumen (aunque mantiene el número de células). Existe menor transpiración, los vasos sanguíneos que la riegan se vuelven más débiles, tiene apariencia de sequedad y disminuye su capacidad para mantener la temperatura corporal. En el envejecimiento de la piel el sol es un factor de gran importancia. También son característicos los cambios faciales asociados al envejecimiento, como la apariencia flácida o lánguida, alargamiento muy leve de nariz y orejas, incremento del vello en el oído, aparición de bolsas en los ojos, etc. Finalmente, otro de los signos más obvios del envejecimiento es la aparición de canas en el cabello, así como la mayor o menor caída del mismo y disminución en su velocidad de crecimiento.

A continuación, se exponen algunos de estos sistemas y algunas de las modificaciones observadas.

3.1. Sistema nervioso

A lo largo de la vida son varias las modificaciones estructurales que sufre el cerebro, tanto macroscópicas como bioquímicas. Entre éstas, se encuentran el descenso del peso del cerebro, disminución del volumen cerebral con aumento del tamaño de los surcos y disminución de las circunvoluciones cerebrales, atrofia y muerte celular (pérdida de neuronas), acúmulo de lipofucsina, degeneración neurofibrilar, alteraciones en los sistemas vasculares y en los sistemas de neurotransmisores (síntesis y recepción), alteraciones metabólicas, procesos de desmielinización, etc. Gran parte de estas modificaciones tienen lugar tanto en el sistema nervioso central como en el autónomo.

La principal consecuencia de estos cambios es un enlentecimiento en la velocidad de transmisión de los mensajes, con todas las alteraciones psicológicas y físicas que esto pueda conllevar (alteraciones en la memoria, percepción, control de diversas funciones reguladoras autonómicas, con alteración en el mantenimiento de la homeostasis, etc.).

Sin embargo, hay que indicar que todos estos cambios no son iguales para todos los individuos, sino que algunos experimentarán numerosos cambios y otros tan sólo unos pocos. Por otra parte, a pesar de estas alteraciones, un cerebro viejo (histológica y bioquímicamente hablando) no tiene por qué ser funcionalmente viejo. Esto se consigue gracias a una facultad del sistema nervioso conocida como plasticidad neuronal, que permite a las neuronas remanentes alterar su sistema de dendritas y sinapsis, manteniéndose así la eficacia de los circuitos neuronales dañados.

Entre las patologías más comunes que se pueden encontrar en la vejez y que en cierta medida se asocian con algunas de las alteraciones descritas arriba (junto a alteraciones hormonales, entre otras), se encuentran la demencia, depresión, pérdida de memoria severa, Alzheimer, Parkinson, etc.

3.2. Sistema cardiovascular

El corazón y los vasos sanguíneos cambian conforme se envejece. De este modo, el corazón altera ligeramente su tamaño (incrementa levemente), muestra una pared cardiaca más gruesa, tiene lugar un incremento en los depósitos de lipofucsina, un engrosamiento y rigidez en las válvulas del corazón, el músculo cardiaco pierde elasticidad, bombea con menor eficacia y tiene que trabajar más para cumplir la misma función. Asimismo, con la edad existe una alteración en la frecuencia cardiaca por pérdidas de células marcapasos y/o desarrollo de tejido fibroso y depósitos de grasa.

Junto a estos cambios en el corazón se observan cambios en los vasos sanguíneos; así, la aorta pierde elasticidad al volverse más gruesa y rígida, lo cual da lugar a un aumento ligero en la tensión arterial.

A pesar de estos cambios significativos, el corazón es lo suficientemente fuerte como para satisfacer las necesidades del organismo, y sigue siendo capaz de abastecer adecuadamente todas las partes del cuerpo. Sin embargo, la capacidad de este sistema para enfrentarse a lesiones o demandas extras de carga de trabajo causadas por el estrés o por enfermedades, entre otras causas, se ve disminuida.

Estas alteraciones pueden llegar a causar múltiples problemas de salud, como hipertensión, arritmias, infartos, etc.

3.3. Sistema respiratorio

Al igual que sucede con el sistema cardiovascular, el sistema respiratorio muestra alteraciones asociadas al envejecimiento. En general, se observa una disminución en la capacidad máxima respiratoria. Los pulmones muestran disminución en el número de alveolos, así como de capilares y alteraciones en su elasticidad. Al igual que en el sistema circulatorio, el sistema respiratorio en la vejez muestra una capacidad disminuida para enfrentarse a cargas extras de trabajo.

3.4. Sistema renal

Existe una pérdida de peso en los riñones asociada a la edad, lo cual afecta al número y tamaño de las nefronas. Conjuntamente, existen alteraciones de los vasos sanguíneos (se endurecen), lo que conlleva una disminución del flujo sanguíneo renal. Estos cambios dan lugar a que la velocidad de filtración de la sangre por parte del riñón (tasa de filtración glomerular) sea más lenta, con una disminución de más del 40% con respecto a individuos de 20-30 años.

Existen dificultades para concentrar la orina y alteraciones en la capacidad de excreción y de transferencia tubulorrenal. Así, la respuesta de un individuo adulto a cambios orgánicos en la ingesta de líquidos y electrólitos se ve disminuida, lo que, entre otras cosas, puede favorecer la aparición de deshidratación.

Entre los problemas más comunes en el anciano asociados a este sistema se encuentran la incontinencia urinaria y las insuficiencias renales agudas o crónicas.

3.5. Sistema esquelético y muscular

Con el avance de la edad los huesos tienden a reducir su tamaño y a perder densidad. En general, se observan pérdidas de contenido mineral, pérdidas de líquido en los discos intervertebrales, las articulaciones se vuelven más rígidas y menos flexibles, aparecen fricciones entre los cartílagos y procesos de calcificación en algunas articulaciones.

Así, los huesos se vuelven frágiles y se rompen con facilidad y, debido a estos cambios o altera-

ciones degenerativas en las articulaciones, fundamentalmente en cadera y rodilla, se puede presentar inflamación, dolor, rigidez y deformidades. La postura se suele volver ligeramente encorvada y el movimiento es más lento y limitado, con movimientos calculados y muchas veces inseguros.

Por otra parte, como se ha comentado anteriormente, se observa una disminución en la masa corporal magra. La pérdida de masa muscular (sarcopenia) a medida que avanza la edad está bien documentada. En ocasiones, el tejido muscular que se pierde puede ser reemplazado por tejido fibroso duro. Estos cambios implican una disminución clara de la fuerza. En la sarcopenia tienen gran importancia las alteraciones que ocurren a nivel mitocondrial, con pérdida en la capacidad energética, etc.

Estas alteraciones en huesos, articulaciones y masa muscular pueden dar lugar a problemas de salud de gran importancia en el anciano, como la osteoporosis, artritis, debilidad muscular, etc.

3.6. Sistema digestivo

Son varios y de importancia los cambios que se producen en el tracto digestivo con el avance de la edad.

En el anciano es normal observar cambios en el aparato masticador, como pérdida de piezas dentales, atrofia en el tejido óseo bucal, pérdida de masa muscular, cambios en la secreción salival (tanto en composición como en cantidad), pérdida de elasticidad en la mucosa oral, etc.

Los movimientos del esófago para tragar los alimentos se hacen más lentos, así como el paso de los alimentos digeridos hasta el intestino, debido a una reducción en la motilidad gástrica y a un enlentecimiento en el vaciamiento gástrico. Existen alteraciones en la secreción gástrica (disminución de la acidez y secreción de factor intrínseco,de gran importancia en la absorción de vitamina B_{12}).

En el intestino, al igual que en el estómago, se observa una disminución en los patrones motores y alteraciones en los patrones secretores. Entre otros efectos, existe una reducción de la actividad de enzimas intestinales, como, por ejemplo, la lactasa, y alteración en la capacidad de absorción de nutrientes, lo cual es en parte debido a una disminución en la superficie absortiva del intestino delgado.

Estos cambios, unidos a las alteraciones en los sentidos de gusto y olfato, van a modificar los patrones alimentarios en la vejez y dar lugar en muchos casos a desnutrición, así como a la aparición de estreñimiento, en mayor o menor grado, y formación de divertículos en el intestino grueso.

3.7. Sistema endocrino

En lo que respecta a alteraciones en la secreción hormonal por efecto del envejecimiento, los datos muestran mayor controversia, ya que se ha observado que algunas hormonas disminuyen (p. ej., aldosterona, calcitonina, renina, hormona de crecimiento, testosterona, melatonina), otras prácticamente permanecen invariables (p. ej., insulina, cortisol, hormonas tiroideas T_3 y T_4) y otras aumentan (p. ej., noradrenalina o la hormona folículo-estimulante).

Sin embargo, lo que sí se observan son alteraciones en la respuesta a estas hormonas de los tejidos diana, debido, fundamentalmente, a una pérdida de sensibilidad de los receptores hormonales correspondientes y/o pérdida del número de áreas receptoras en la pared celular. Por ejemplo, aunque la secreción de insulina prácticamente no se altera durante el proceso de envejecimiento, el nivel normal de glucosa en ayunas se eleva, lo cual se debe, como se ha comentado anteriormente, a que las células se vuelven menos sensibles a los efectos de la insulina.

3.8. Sistema inmune

Otro sistema de gran importancia que también muestra alteraciones durante el proceso de envejecimiento es el inmune. En general, se puede decir que la vejez conlleva una disminución lenta y permanente en la inmunidad, con un incremento en la aparición de infecciones, alteraciones en la cicatrización de heridas, disminución en la capacidad de combatir enfermedades y trastornos autoinmunes. Entre otras alteraciones, se ha observado una atrofia del timo (es una de las alteraciones que se presenta de modo más temprano), disminución en la cantidad y/o velocidad de formación de anticuerpos protectores, así como alteraciones en las células T (tanto en su prolifera-

ción como en su efectividad) y en la producción de citokinas.

3.9. Órganos sensoriales

También se observan alteraciones de los sentidos. Como se ha comentado anteriormente, hay pérdidas de gusto y olfato, aunque los cambios visuales y auditivos suelen ser los más graves. Con el envejecimiento las estructuras auditivas se deterioran, con lo que la audición puede declinar levemente. Igualmente, las estructuras oculares cambian, por ejemplo, el tamaño de la pupila disminuye y el cristalino se vuelve amarillento, menos flexible y opaco. Todo esto conlleva una disminución más o menos leve en la agudeza visual.

Los cambios comentados en este apartado, así como otros, son los responsables de lo que se conoce como las cinco características comunes del envejecimiento en mamíferos: incremento de la mortalidad con la edad, cambios bioquímicos en tejidos, disminución progresiva de las capacidades fisiológicas, reducción en la habilidad para adaptar respuestas a los estímulos ambientales y susceptibilidad y vulnerabilidad incrementadas frente a la enfermedad.

4. Modelos experimentales en envejecimiento

El hecho de que el envejecimiento ocurra en prácticamente todos los seres vivos podría hacer pensar que cualquier especie capaz de crecer en el laboratorio puede ser un buen modelo para estudiar el envejecimiento. Sin embargo, esto no es así. De hecho, los estudios de envejecimiento se centran en su mayoría en cuatro o cinco especies que, debido a su rápida capacidad de desarrollo, tamaño de sus camadas, complejidad de su genoma, etc., resultan muy apropiadas para dichos estudios. Estas especies son la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, el nematodo *Caenorhabditis elegans*, la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, el ratón de laboratorio *Mus musculus* y la rata de laboratorio *Rattus norvegicus*. Esta concentración ha dado lugar a un notable progreso en el conocimiento molecular de la senescencia, principalmente debido a la identificación de una multitud de mutaciones puntuales que alteran la longevidad.

La célula es el "pilar" del organismo, ya que cambios a nivel celular implican cambios en los tejidos y órganos que forman dichas células, lo cual conlleva a su vez cambios en los sistemas y, finalmente, en todo el organismo. Por otra parte, es conocida la complejidad que en muchas ocasiones muestra el estudio del envejecimiento en un organismo. Ambos aspectos han dado lugar al intento de utilizar cultivos celulares bien definidos que sirvan como modelos para ver el "envejecimiento" celular, también denominado senescencia celular o replicativa, e intentar posteriormente extrapolar estos resultados al envejecimiento del organismo.

Uno de los primeros modelos celulares conocidos fue el de Hayflick y Moorhead. Estos investigadores trabajaron con fibroblastos humanos, utilizándolos en cultivo celular como una especie de modelo de envejecimiento. Los resultados obtenidos en sus estudios mostraban que las células (tanto las de este estudio, como muchas otras) presentaban un comportamiento característico e inevitable; un periodo de rápida proliferación seguido de una disminución en su velocidad de crecimiento y actividad proliferativa, para, finalmente, perder su capacidad de proliferación y entrar en el estado denominado senescencia celular o senescencia replicativa. Estas células presentan parada en la fase G_1/S del ciclo celular, lo cual permite su diferenciación de otros estados, como el estado quiescente, con parada en la fase G_0.

La concentración de especies sobre las que se realizan estudios de envejecimiento ha dado lugar a diversos problemas. Por ejemplo, en el caso de los estudios con ratones, en su mayoría se han centrado en una cepa concreta, la C57BL/6. Esto significa que la mayor parte de la investigación con ratones se ha llevado a cabo en un único genotipo, lo que equivale a que todos estos estudios se hubiesen realizado en una misma persona.

Los modelos experimentales para estudiar el envejecimiento tienen como meta aproximarse a lo que ocurre en el ser humano. Esto representa un problema si se tiene en cuenta que los modelos disponibles están filogenéticamente alejados del ser humano **(Figura 4)**. Como consecuencia de esto, algunos aspectos importantes del envejecimiento humano, tales como los patológicos, bio-

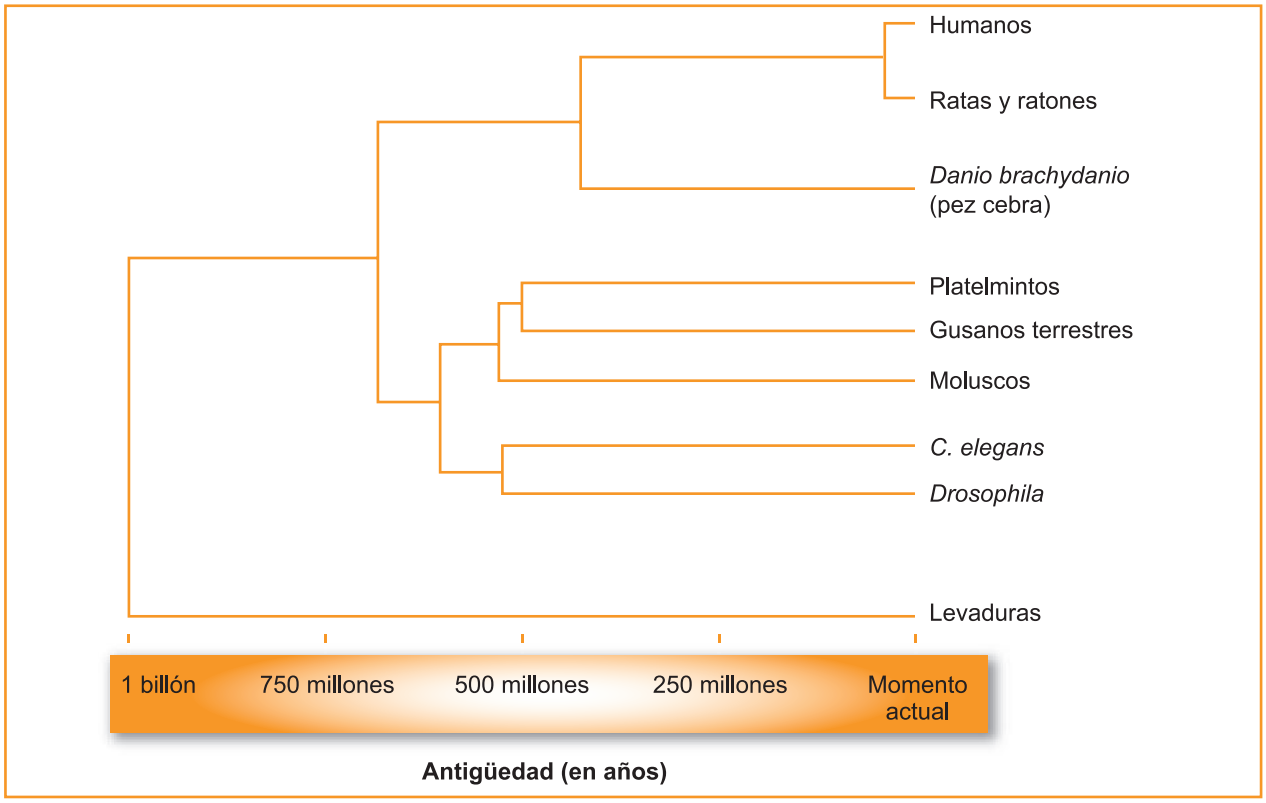


Figura 4. *Distribución filogenética de los principales modelos experimentales en envejecimiento.*

químicos o fisiológicos, no han podido ser estudiados de forma conveniente en dichos modelos experimentales.

Una segunda consecuencia de la distancia evolutiva entre los modelos es la duda acerca de si los cambios y mecanismos observados en *D. melanogaster* o *C. elegans*, por ejemplo, son extrapolables a lo que ocurre en mamíferos, lo cual se antoja más bien una cuestión de fe.

En cualquier caso, los modelos experimentales existentes están ahí, y la información que proporcionan es muy valiosa. El hecho de conocer los genomas de la mayoría de ellos (y la relativa facilidad con que dichos genomas son manipulables), así como numerosas mutaciones debidas al envejecimiento, proporcionan numerosas ventajas. Tan sólo hay que situarse en un contexto filogenético apropiado y saber interpretar la importancia relativa que tienen los distintos hallazgos. En este sentido, el descubrimiento de un determinado fenómeno que sea compartido por *C. elegans* y *Drosophila* revelará poco acerca de la generalidad del fenómeno, ya que estas dos especies pertenecen a la misma rama filogenética y podría tratarse de una peculiaridad propia de dicha rama. Sin embargo, el descubrimiento de un fenómeno tal como la extensión de la vida mediante el aumento de la expresión del gen *Sir2* en levaduras o su homólogo en *C. elegans* sugiere que el efecto de este gen tiene un origen filogenético antiguo, probablemente existente en el ancestro común de ambas especies, pertenecientes a ramas filogenéticamente distintas, y por tanto extendido también en animales taxonómicamente alejados.

Conocer bien los modelos experimentales también es muy útil de cara a lo que se quiere investigar. Por ejemplo, el caso de *D. melanogaster*, cuyas camadas presentan un alto grado de variabilidad interindividual, al igual que ocurre en humanos, sería útil desde este punto de vista para estudiar el efecto de esa variabilidad en relación con el envejecimiento. En cambio, se debe saber que *C. elegans*, de naturaleza hermafrodita, procrea individuos con un alto grado de uniformidad genética, lo que sin duda constituye una herramienta muy útil cuando se trata de investigar mutaciones.

5. Teorías del envejecimiento

Numerosas teorías han sido propuestas con objeto de explicar cómo y por qué ocurre el fenómeno del envejecimiento, si bien muchas de ellas carecen del suficiente apoyo empírico para ser tenidas en cuenta. En general, cualquier teoría que pretenda ser creíble debe satisfacer una serie de condiciones:

- Debe ser capaz de explicar cómo un organismo pierde la capacidad de mantener su homeostasis en la última parte de su vida.
- Debe aclarar las bases para las amplias variaciones en la duración de la vida de cohortes, cepas genéticas y especies.
- Debe ser capaz de identificar el o los factores responsables de la extensión de la vida mediante mutaciones simples o a través de regímenes experimentales tales como la restricción energética en roedores y cambios en la temperatura ambiente en poiquilotermos.
- Debe poder demostrar que el grado de envejecimiento puede ser manipulado mediante variaciones en los factores que se sospecha son los causantes de la senescencia.

Las teorías existentes sobre el envejecimiento se pueden agrupar en dos grandes bloques: teorías estocásticas y teorías genético-evolucionistas. En general, se puede decir que no existe una sola teoría unificadora que sea capaz de explicar por sí misma el fenómeno del envejecimiento en toda su extensión. Esto es así debido a que los mecanismos del envejecimiento podrían variar de un modo considerable en los distintos organismos, tejidos y células.

5.1. Teorías estocásticas

Las teorías estocásticas proponen que el envejecimiento es causado por daños al azar en las diferentes moléculas biológicas. El daño se va acumulando poco a poco con la edad, hasta llegar un momento en que el nivel de dicho daño es tal que se produce el declive fisiológico conocido como envejecimiento.

En 1928 Pearl propone la hipótesis de la tasa de vida (*the rate of living theory*), basándose en la observación de que especies con una tasa metabólica elevada presentan frecuentemente vidas más cortas y, por tanto, la expectativa de vida es inversamente proporcional a la tasa metabólica de la especie según esta teoría. Aunque inicialmente el lazo de unión entre metabolismo y longevidad era desconocido, en 1956 Harman propone la explicación bioquímica a esta interrelación postulando la **teoría de los radicales libres**, tratándose en la actualidad de una de las teorías del envejecimiento más aceptadas. Esta teoría propone que el envejecimiento normal es el resultado del daño aleatorio a los tejidos mediado por los radicales libres. Con el tiempo, Harman fue enfocando su teoría hacia la mitocondria como principal fuente de producción de radicales libres y blanco del daño de los mismos. Posteriormente, el español Jaime Miquel propuso la **teoría mitocondrial** [daño progresivo al DNA mitocondrial por especies reactivas del oxígeno (ERO o ROS: ***R****adical* ***O****xygen* ***S****pecies*), etc.]. Dado que en la actualidad se conoce que muchas ROS no son radicales libres, hoy día se habla fundamentalmente de la **teoría del estrés oxidativo**.

Existe otro grupo de teorías estocásticas propuestas que guardan determinadas similitudes con la teoría del estrés oxidativo y que en cierto modo podrían ser explicadas por ésta. En dicho grupo se incluyen la **teoría del entrecruzamiento** (el entrecruzamiento al azar de proteínas y DNA altera la función celular); **teoría del error catastrófico** (acumulación de daños al azar en la síntesis de proteínas); **teoría de la glicosilación** (la formación de proteínas glicosiladas da lugar a una seria disrupción de las funciones celulares); **teoría de los determinantes de longevidad** (el envejecimiento es causado por los productos del metabolismo, y el grado de envejecimiento viene dado por la capacidad para protegerse frente a esos productos); **teoría de la hipótesis de membrana** (daños en la membrana celular dan lugar a una disminución en la capacidad de eliminar productos de desecho, a una síntesis proteica disminuida y a una pérdida de agua desde el citoplasma, lo que conlleva una disminución de la actividad enzimática); **teoría de la entropía** (mecanismos tales como la restricción energética, que reducen el grado de producción de entropía, liberando energía más lentamente, retrasan el deterioro molecular).

5.2. Teorías evolutivas y genéticas

Este grupo de teorías considera el proceso del envejecimiento como parte de un fenómeno de desarrollo y maduración continuo, controlado y genéticamente programado. Aunque estos conceptos resultan muy atractivos, resulta contradictorio el control tan estricto que existe con respecto a los fenómenos de desarrollo y el grado tan diverso de expresión que alcanzan los efectos del envejecimiento.

Según la **teoría inmunológica**, el envejecimiento se origina por disminución de la capacidad del sistema inmune para producir anticuerpos: a medida que la respuesta inmune disminuye, también se reduce la capacidad del sistema para discriminar entre sus constituyentes y los ajenos, con un aumento de reacciones autoinmunes. Esta teoría tiene el inconveniente de que sólo es aplicable al sistema inmune y que no descarta la posibilidad de que estos cambios sean secundarios a otros más tempranos, por ejemplo, de tipo hormonal.

La **teoría neuroendocrina** se basa en el hecho de que no hay ninguna parte del cuerpo que pueda actuar aislada de los sistemas nervioso y endocrino; por lo tanto, si alguno de ellos se perturba, los demás sistemas se verán afectados de una u otra manera. Sin embargo, al igual que ocurre con la teoría inmunológica, a esta teoría le falta universalidad. ya que no todos los organismos vivos poseen un sistema neuroendocrino y a pesar de ello envejecen.

La **teoría genético-evolutiva** propone que el envejecimiento es la continuación del proceso de desarrollo y diferenciación, tratándose de una secuencia de eventos codificados en el genoma. Esta teoría postula que el envejecimiento sería la consecuencia tardía de la expresión de genes seleccionados por la evolución debido a que aumentan el éxito reproductivo. El poder que favorece la selección de genes beneficiosos se manifiesta más en los jóvenes ya que éstos son los que se encargan de la reproducción y de la transmisión genética, de modo que no se tiene en cuenta lo que ocurre con esos genes en la edad madura. Así, un gen que favorezca la reproducción pero sea perjudicial a largo plazo no será seleccionado para ser eliminado.

Dentro de este grupo de teorías se encuentra la **hipótesis del soma disponible**, enunciada por Kirwood. Según esta teoría, la utilización de energía a lo largo de la vida ha de emplearse preferentemente para la reproducción, a expensas de los mecanismos de reparación mismos, cuya capacidad se vería pronto rebasada al superar la edad reproductiva. Esta teoría propone que, entre los principales candidatos que determinan la expectativa de vida de una especie desde el punto de vista genético, se encuentran aquellos genes que regulan la reparación y el mantenimiento de células somáticas. El estudio de la expresión génica en roedores con envejecimiento revela la existencia de genes que alteran su expresión conforme avanza la edad, o cuya expresión se ve alterada con intervenciones del tipo de la restricción energética que afectan a la velocidad de envejecimiento. No es de sorprender que la mayoría de estos genes estén involucrados en las rutas de respuesta celular al daño oxidativo.

Según la hipótesis del soma disponible, la selección natural favorece a aquellos genes que actúan en los estadios tempranos de la vida, permitiendo así la reproducción de la especie frente a aquellos genes que se encargan de preservar las células no germinales o el soma disponible. Por tanto, son las líneas somáticas (al contrario que las células germinales) de todos los animales las que declinan y se degeneran con la edad, provocando los cambios fenotípicos que se conocen como envejecimiento.

Algunos científicos piensan que las claves del envejecimiento deben buscarse en el proceso de división celular, idea que conduce a la **teoría de los telómeros**. Según la hipótesis formulada por Olovnikov, el acortamiento de los telómeros en cada uno de los ciclos de división celular es el responsable de la limitación en la proliferación de los cultivos celulares (el denominado "límite de Hayflick").

6. Estrés oxidativo, mitocondria y envejecimiento

En la actualidad, como se ha referido en el apartado 5, una de las teorías más aceptadas es la teoría mitocondrial del envejecimiento, muy vinculada a la teoría del estrés oxidativo. Esta vinculación viene dada por el hecho de que la mitocondria es la prin-

cipal fuente de producción de radicales libres a nivel celular, así como el orgánulo que más directamente sufre este daño, el cual parece que condiciona en gran medida el grado de envejecimiento celular. Por tanto, se considera necesario prestar especial atención a esta teoría y a sus fundamentos.

La mitocondria tiene dos membranas, una externa, que es porosa, y otra interna, muy rica en proteínas y que es una barrera de permeabilidad para los iones. Ambas membranas, al igual que todas las membranas biológicas, se componen de lípidos y proteínas. Sin embargo, la membrana interna mitocondrial es muy diferente al resto de membranas biológicas por cuanto su contenido en proteínas supera el 80% (mientras que en la mayoría de las membranas no supera el 50%). Algunas proteínas están íntimamente unidas a la superficie de la membrana y otras se hallan embebidas como una parte integral de las mismas. Por su importancia y significado dentro del contexto del estrés oxidativo merecen ser destacados los complejos proteicos que forman la cadena de transporte electrónico mitocondrial (CTEmt).

La CTEmt se encarga en los organismos aeróbicos de la producción metabólica de la energía necesaria para la vida. Básicamente, los alimentos son oxidados mediante la pérdida de electrones, los cuales son aceptados por transportadores electrónicos tales como la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+) y flavinas (flavín mononucleótico, FMN, y flavín adenina dinucleótido, FAD). La nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH) y las flavinas reducidas ($FMNH_2$ y $FADH_2$) son oxidadas de nuevo por el oxígeno, produciendo grandes cantidades de ATP. El proceso de oxidación se lleva a cabo mediante pequeños saltos, de modo que la energía se libera gradualmente. Esto se lleva a cabo por la CTEmt (*ver Capítulo 1.2, apartado 3.1.2*).

Desde un punto de vista funcional **(Figura 5)**, la CTEmt se compone principalmente de cuatro complejos enzimáticos lipoproteicos:

- Complejo I, NADH: ubiquinona oxidorreductasa.
- Complejo II, succinato: ubiquinona oxidorreductasa.
- Complejo III, ubiquinol: ferrocitocromo *c* oxidorreductasa.
- Complejo IV, ferrocitocromo *c*: oxidorreductasa o citocromo *c* oxidasa (CcOX).

La parte de la CTEmt que procesa el oxígeno es el complejo IV, la CcOX. Esta enzima utiliza cuatro moléculas de citocromo *c* reducido para quitarle a cada una un electrón y dárselos a una molécula de oxígeno. Este proceso de reducción tetraelectrónica del oxígeno no se puede hacer de golpe, sino electrón a electrón. Debido a esta reducción gradual, el complejo proteico debe asegurar que el oxígeno parcialmente reducido, altamente tóxico, no sea liberado al medio antes de ser convertido a agua.

6.1. La mitocondria como fuente de estrés oxidativo

El anión superóxido ($O_2^{\cdot -}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) son, respectivamente, el producto de la reducción univalente y bivalente del oxígeno. Ambos son producidos de forma habitual durante el metabolismo aeróbico, fundamentalmente, a nivel mitocondrial (*ver Capítulo 1.19*). Se ha estimado que entre un 1 y un 5% del oxígeno total consumido por la mitocondria no es reducido enteramente a agua y es transformado en $O_2^{\cdot -}$, el cual, de manera espontánea o como consecuencia de la acción de la superóxido dismutasa, es convertido a su vez en H_2O_2. Aunque la CcOX es la que se ocupa de la reducción del oxígeno, apenas genera radicales libres; por el contrario, las dos principales regiones de la CTEmt con capacidad para producir ROS son el complejo I y el complejo III **(Figura 5)**.

Lo que ocurre es que, durante el paso de los electrones de un complejo a otro, algunos de ellos escapan y se unen directamente al oxígeno circundante, generándose $O_2^{\cdot -}$. Además, en la membrana mitocondrial externa hay una fuente adicional de ROS proveniente de la desaminación de aminas biógenas por monoamino oxidasas, las cuales a través de una reducción dielectrónica producen H_2O_2 partiendo de O_2 **(Figura 6)**.

El nivel fisiológico de producción de ROS a nivel de CTEmt depende del estado metabólico mitocondrial. Así, el estado de reposo mitocondrial (estado 4), caracterizado por un nivel bajo de respiración y no disponibilidad de ADP, se asocia a una elevada producción de ROS, tal vez como consecuencia del alto grado de reducción de los componentes de la cadena. Por otro lado, el

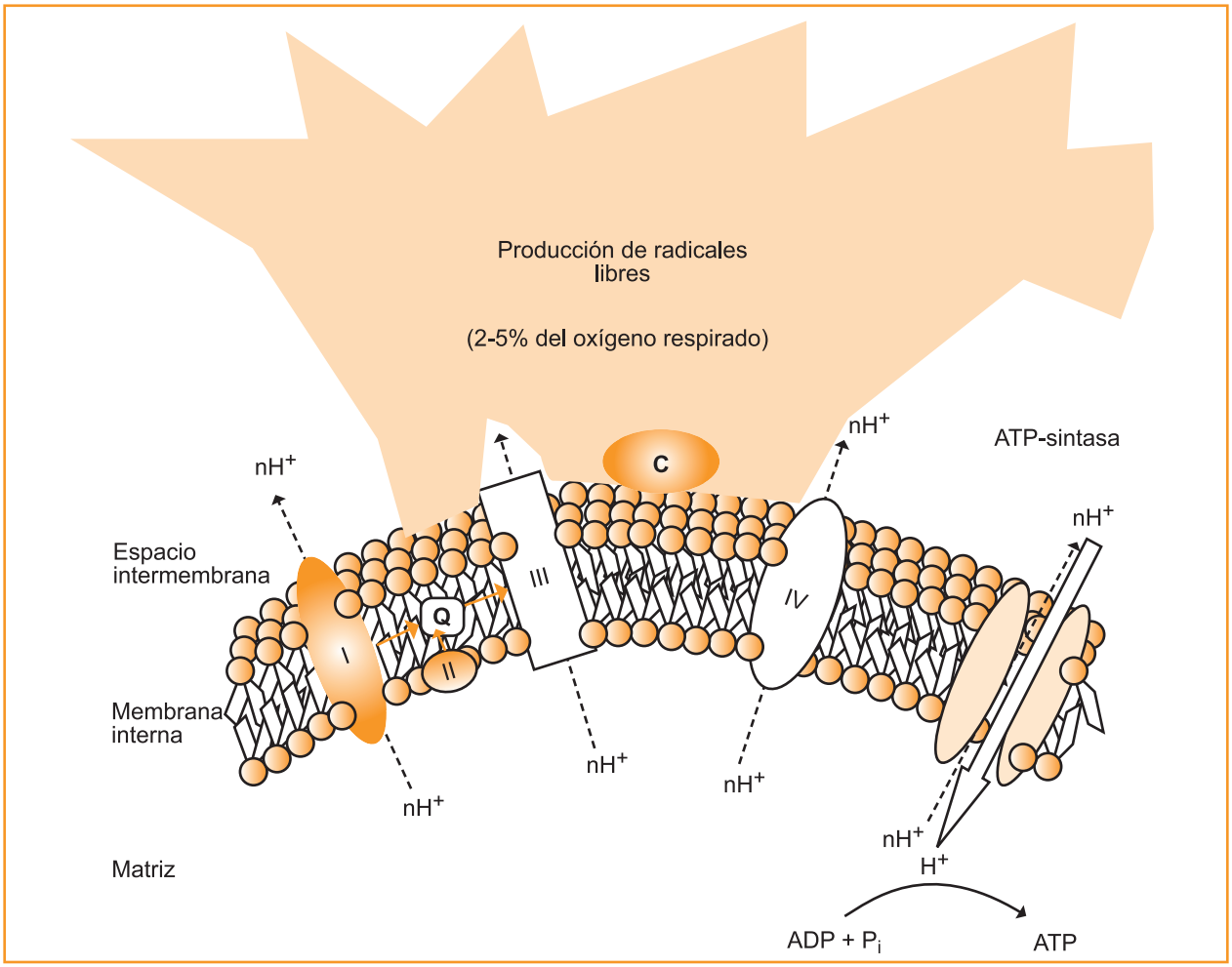


Figura 5. *La cadena de transporte electrónico mitocondrial. Se destacan los diferentes complejos que la forman, así como los principales lugares de producción de radicales libres.*

estado mitocondrial activo (estado 3), caracterizado por un alto consumo de oxígeno y elevada disponibilidad de ADP, muestra una producción de ROS relativamente baja. Por último, en el estado de anoxia (estado 5), caracterizado por una limitación en el suministro de oxígeno y una ausencia de respiración, no se observa producción de ROS.

6.2. La mitocondria como blanco del estrés oxidativo

Las membranas biológicas en general son muy sensibles al estrés oxidativo debido a la presencia de enlaces dobles de tipo carbono-carbono en las colas lipídicas de los fosfolípidos que las componen. El daño oxidativo a los lípidos de la membrana se puede realizar de forma directa mediante su iniciación por ROS, como los radicales hidroxilo o el anión superóxido, o bien de forma indirecta mediante algunos productos de la propia peroxidación lipídica como son ciertos aldehídos altamente reactivos que a su vez potencian el fenómeno. En cualquier caso, y sea de un modo u otro, la oxidación de los lípidos de la membrana mitocondrial da lugar a la alteración de los mismos y a cambios en la fluidez de la misma, a variaciones en su relación con las proteínas adyacentes y, como consecuencia de todo lo anterior, a alteraciones en su función. Además, en el caso concreto de la mitocondria hay un lípido presente en la membrana interna llamado cardiolipina, altamente insaturado y por consiguiente de elevada susceptibilidad a la oxidación.

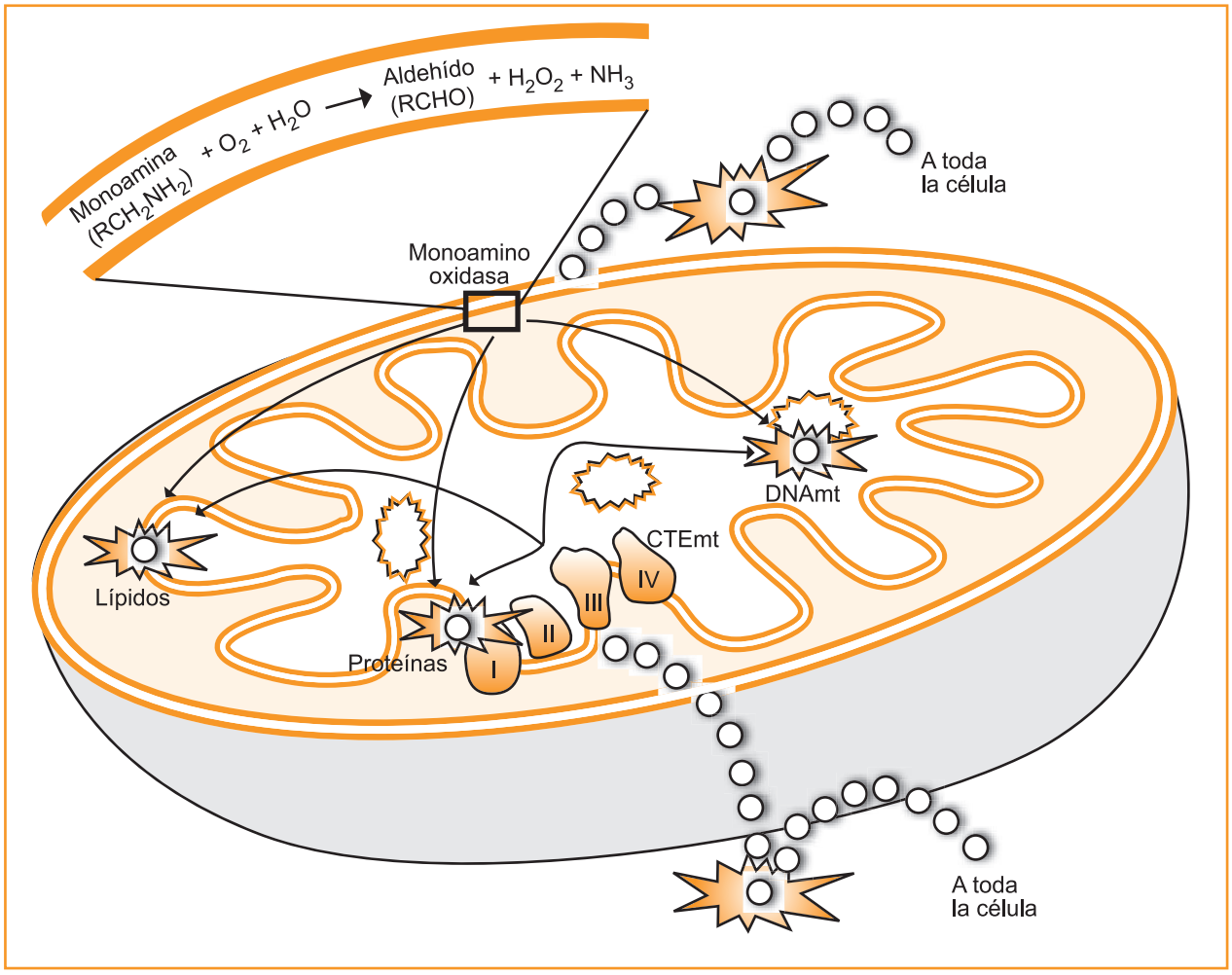


Figura 6. *Principales fuentes de producción de radicales libres a nivel mitocondrial, así como los objetivos más importantes del daño por dichos radicales libres.*

La oxidación de la cardiolipina es extremadamente perjudicial por hallarse implicada en la función de proteínas de la CTEmt tales como la CcOX o el transportador de nucleótidos de adenina (TNA).

Debido a la proximidad física entre proteínas y lípidos, el daño oxidativo a las proteínas mitocondriales, como resultado directo del estrés oxidativo o bien como una consecuencia de la peroxidación lipídica, puede dar lugar a entrecruzamiento, degradación y pérdida de función de las mismas. Numerosas proteínas de membrana como la ATPasa, el TNA, la CcOX, etc., son fácilmente inactivadas mediante estrés oxidativo. Además, la oxidación de proteínas determina la apertura del poro de transición, clave en el proceso de apoptosis. En resumen, la alteración de las proteínas de la CTEmt tiene como consecuencia directa una pérdida de funcionalidad mitocondrial e indirectamente una elevación de la producción de ROS.

La mitocondria cuenta con un genoma propio que es diferente en estructura y organización al nuclear. Se trata de un número variable de copias idénticas de DNA de cadena doble y circular (hasta 10 copias), localizado en la matriz mitocondrial, próximo a determinadas zonas de la membrana mitocondrial interna (precisamente el lugar de máxima generación de ROS). Su tamaño es pequeño (16,5 Kb) y codifica para 13 proteínas mitocondriales, 7 de las subunidades del complejo I, una proteína del complejo III, 3 del complejo IV, 2 de la ATP-sintasa, 22 RNA de transferencia y dos RNA ribosómicos **(Figura 7)**.

A diferencia del DNA nuclear, el mitocondrial no está protegido por histonas y tradicionalmen-

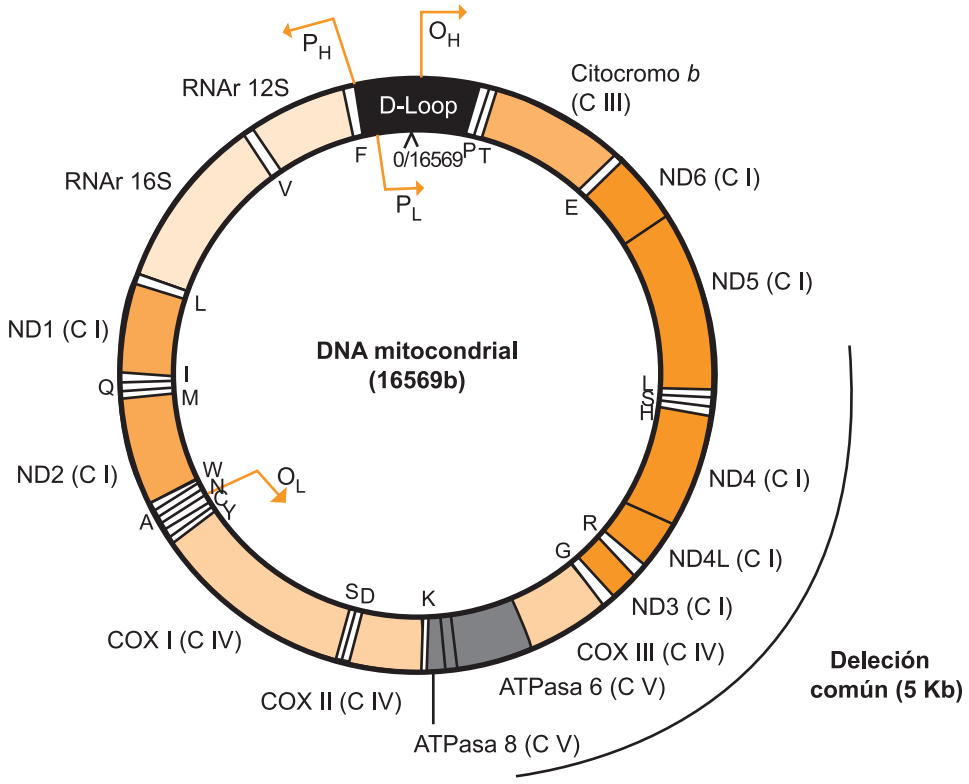


Figura 7. *Esquema del DNA mitocondrial humano.*

te ha sido considerado de una elevada susceptibilidad a ser atacado oxidativamente. Durante mucho tiempo se pensó que la mitocondria carecía de un sistema de reparación de DNA. En la actualidad, se reconoce la existencia de un sistema de reparación del DNAmt, del cual, aunque todavía es un gran desconocido, se sabe que es capaz de reparar el daño oxidativo (p. ej., daño a bases y roturas de una sola cadena). Además, se conoce que la vía de reparación de excisión de bases juega un papel predominante dentro del sistema de reparación de DNAmt.

Según muchos indicios, el daño oxidativo al DNAmt es más importante desde el punto de vista del envejecimiento que el ejercido sobre lípidos y proteínas. Esto se debe a que el DNAmt dañado se puede propagar debido a la capacidad de división de mitocondrias y células, lo cual permite la amplificación de las consecuencias fisiológicas del daño. Además, el daño al DNAmt podría ser incluso más importante que el daño al DNA nuclear, ya que todo el genoma mitocondrial codifica genes que son expresados, mientras que el nuclear contiene una gran cantidad de secuencias no transcribibles.

El estrés oxidativo puede afectar al DNAmt de diversas formas, entre las cuales las más conocidas son la alteración oxidativa de bases, el aumento en el nivel de delecciones y la aparición de mutaciones puntuales. La forma más común hasta la fecha de estudiar la alteración oxidativa de bases de DNA es mediante el análisis de la 8-hidroxi 2-deoxiguanosina por HPLC con detección electroquímica. Numerosos laboratorios han hallado niveles más elevados de este biomarcador a nivel mitocondrial con res-

pecto al encontrado en el núcleo durante el envejecimiento.

En relación con las delecciones de DNA, se ha descrito que éstas aumentan con la edad en una variedad de tejidos posmitóticos en numerosas especies, incluyendo humanos, monos, roedores y nematodos. Además, el aumento en el porcentaje de delecciones se correlaciona de forma directa con la elevación del daño oxidativo. Entre todas las delecciones estudiadas, existe una que por su frecuencia de aparición ha sido llamada "deleción común" **(Figura 7)** y que se ha comprobado que aumenta hasta 2 y 3 veces con la edad en tejidos como el cerebro. No obstante, dado que el porcentaje en que se eleva el grado de delecciones no supera el 2-3%, se especula sobre la importancia fisiológica que este fenómeno tiene desde el punto de vista del envejecimiento.

Las mutaciones del DNAmt son la base de un número importante de patologías humanas, lo que ha abierto un nuevo y emocionante campo en la investigación mitocondrial. El DNAmt tiene un tipo de transmisión maternal; además, hay numerosas copias de la molécula en una célula (poliplasmia) y existe la posibilidad de que una mutación experimente diferentes grados de heteroplasmia. Todo esto hace que para que una lesión se manifieste fenotípicamente es necesario que alrededor del 80% del DNAmt de una célula deba estar mutado. Básicamente, las consecuencias fenotípicas de una mutación del DNAmt deben ser defectos en la maquinaria implicada en la fosforilación oxidativa de la mitocondria, y este tipo de defectos son en cierto modo la base de las alteraciones asociadas al proceso normal de envejecimiento.

6.3. Implicación de la mitocondria en el envejecimiento

Según lo visto en los dos epígrafes anteriores, el estrés oxidativo mitocondrial es de suma importancia dentro de la fisiología de los organismos. Además, este orgánulo, como consecuencia de esa actividad oxidativa, juega un papel primordial en el proceso del envejecmiento.

Uno de los eventos comunes al envejecimiento es la pérdida progresiva de la funcionalidad mitocondrial, pudiéndose considerar de forma general este orgánulo como una especie de reloj biológico del envejecimiento. La mitocondria ha sido propuesta como el nexo de unión entre la acumulación del daño oxidativo producido por las ROS dependientes de la edad y las alteraciones en la función fisiológica asociadas con el envejecimiento. De este modo, diversas evidencias experimentales indican que la mitocondria es uno de los principales blancos del proceso del envejecimiento. Entre dichas evidencias, se pueden enumerar las siguientes:

- Acumulación de grandes delecciones y mutaciones puntuales en el DNAmt y descenso en el número de copias de DNAmt en algunos tejidos.
- Descenso con la edad de la actividad enzimática de la cadena de transporte electrónico mitocondrial.
- Aumento en la producción de radicales libres, probablemente como consecuencia de las alteraciones anteriores.
- Cambios en la morfología mitocondrial y descenso del potencial de la membrana mitocondrial.

Estas evidencias corroboran que la función mitocondrial sufre importantes alteraciones durante el envejecimiento y deberían ser consideradas las causantes del fenotipo de envejecimiento, más que considerar al envejecimiento como una consecuencia de tales alteraciones. Hay una serie de observaciones que apoyan esta relación causa-efecto:

- Cuando se microinyectan mitocondrias procedentes de fibroblastos de rata vieja en células de ratas jóvenes estas últimas sufren de forma rápida un proceso de senescencia y degeneración.
- Existe una relación inversa entre el nivel de producción mitocondrial de hidroperóxidos y la vida máxima de las especies.
- La administración de diversos antioxidantes, como glutatión, vitamina C, N-acetil cisteína o coenzima Q, es capaz de disminuir o eliminar el estrés oxidativo inducido por las mitocondrias y provoca un aumento de la vida media y máxima en diversas especies.

Diferencias en la funcionalidad mitocondrial pueden ser importantes para lograr un envejecimiento adecuado o inadecuado. Esto se puede deducir del estudio de determinados grupos de población en diversas partes del mundo. Así, por ejemplo, se ha visto que una variante hereditaria de una línea germinal de DNAmt (halogrupo J) se asocia con un envejecimiento mejor y una mayor longevidad en la población italiana. Por otro lado, en Japón se han descubierto tres mutaciones asociadas a una lí-

nea germinal de DNAmt halladas con una elevada frecuencia en personas centenarias de esta parte del mundo.

Otro punto importante a tener en cuenta con respecto a la relación de la mitocondria y el envejecimiento es que dicho orgánulo no sólo es la planta energética celular y la principal fuente de ROS, sino que, además, muchas señales convergen en la mitocondria, la cual puede a su vez modificar y ajustar su metabolismo en respuesta a dicha información. De este modo, se debe considerar también la mitocondria como un elemento de control de la expresión génica nuclear. Así, se ha descubierto que un número elevado de proteínas con papel regulador o de adaptación se hallan localizadas en la mitocondria o bien son traslocadas a ella para su activación. Éste es el caso de Nur77/TR3, p53, PKC δ, JNK/SAPK, algunas caspasas y miembros citoplasmáticos de la familia del Bcl2, tales como Bid, Bax o Bim.

Con relación al papel de la mitocondria en el envejecimiento, el control de los procesos de apoptosis por parte de estos orgánulos resulta de suma importancia. Dicho control se pierde a menudo en las células viejas, las cuales por otro lado presentan una mayor susceptibilidad al estrés oxidativo. Las ROS disminuyen el potencial de membrana mitocondrial, lo que permite la apertura del poro de transición, saliendo al exterior mitocondrial iones calcio y otros sustratos. Esta secuencia de reacciones da lugar a apoptosis en linfocitos, hígado y cerebro en el caso de ratones viejos.

7. Evolución genética y envejecimiento

Entre los aspectos más importantes del estudio del envejecimiento se encuentra averiguar la importancia de la contribución genética a la longevidad, cómo evoluciona dicha contribución y cuáles son sus mecanismos. Está claro que el envejecimiento y la longevidad se ven afectados por los genes. Esto se comprueba al observar que diferentes cepas de una misma especie de animal de laboratorio presentan vidas medias y máximas diferentes. También se comprueba en los estudios con gemelos, en los que se observa que los monocigóticos presentan longevidades más similares entre sí que los gemelos heterocigóticos. Por último, han sido descritas numerosas mutaciones génicas en especies como nematodos, moscas de la fruta y levaduras, que tienen como consecuencia variaciones en la longevidad. En cualquier caso, se ha estimado en un 25% el peso relativo que los genes tienen sobre la duración de la vida en humanos.

El hecho de que el envejecimiento no ocurre prácticamente en los animales salvajes es un argumento importante para rebatir lo que fue la primera explicación evolutiva del envejecimiento. Dicha explicación decía que el envejecimiento está genéticamente programado con objeto de limitar el tamaño de la población y evitar la superpoblación. Esta idea resultaba atractiva en principio, pues sugería la existencia del llamado "gen del envejecimiento".

Sin embargo, existen numerosas pruebas que invitan a descartar la existencia de genes que controlen el envejecimiento. En primer lugar, al no existir envejecimiento en la vida salvaje, difícilmente éste puede servir para controlar el tamaño de las poblaciones. En segundo lugar, como los animales salvajes mueren jóvenes, la selección natural no ejerce una influencia directa sobre el proceso de senescencia, por tanto, difícilmente podrá evolucionar un gen del envejecimiento. En tercer lugar, en los estudios realizados con modelos experimentales se han encontrado genes que alteran el grado de envejecimiento, pero ninguno de ellos consigue evitarlo en su totalidad.

En lugar de estar programados para morir, como sugiere el concepto del gen del envejecimiento, los organismos parecen estar programados para sobrevivir. Sin embargo, lo que ocurre es que esta programación no es lo suficientemente buena para vivir de manera indefinida.

Lo anterior se entiende observando los patrones de supervivencia en animales. Así, el 90% de una población de ratones salvajes muere a la edad de 10 meses, por lo que cualquier inversión en programar la supervivencia por encima de esta edad sólo estaría beneficiando al 10% de la población. Por tanto, la ventaja evolutiva sería escasa. Este argumento se ve fortalecido cuando se observa que los mecanismos necesarios para mejorar la supervivencia requieren que los ratones combatan el deterioro extrínseco (daño al DNA, oxidación de proteínas, etc.), lo cual a su vez necesita recursos metabólicos.

Los recursos metabólicos son escasos, como sugiere el hecho de que la principal causa de mortalidad en los ratones en su entorno salvaje sea el frío, debido a fallos en el mantenimiento de la termogénesis. Por tanto, desde un punto de vista genético, el ratón se beneficiará invirtiendo en termogénesis o reproducción antes que en una mejor capacidad para reparar el DNA. Este concepto es el que recoge la teoría del soma disponible que ya se ha revisado en el apartado correspondiente.

Por tanto, se puede resumir que no existen genes expresamente diseñados para el envejecimiento pero sí que hay genes que aumentan la longevidad. La siguiente perspectiva que deriva del estudio evolutivo del envejecimiento sugiere que las acciones de los genes en las etapas tardías de la vida pueden dar lugar a envejecimiento, pero no porque dichos genes hayan sido seleccionados específicamente para ello.

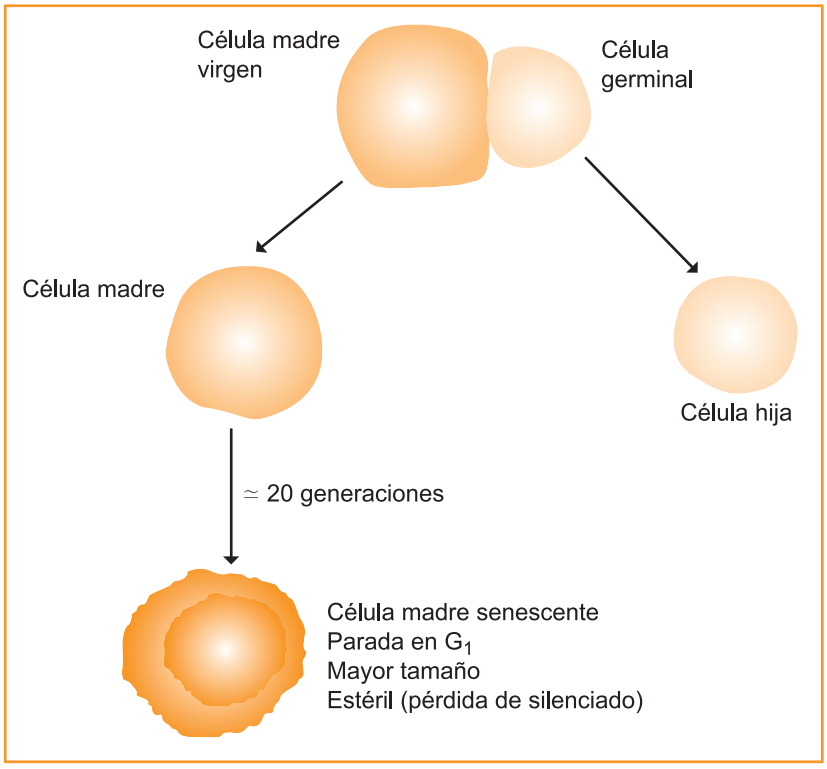


Figura 8. *Esquema del envejecimiento en levaduras.*

Resulta evidente que son numerosos los genes que pueden contribuir a la aparición del fenotipo del envejecimiento. Uno de los mayores desafíos científicos consiste ahora en identificar cuáles son y cuál es su importancia relativa.

8. Genes que alargan la vida

Como se ha comentado ya, el envejecimiento se debe a aspectos genéticos sólo en un 25% del total. A pesar de este bajo porcentaje y de quedar establecido en el apartado anterior que no existen genes específicos para el envejecimiento, se ha comprobado que existen numerosas mutaciones que pueden modificar de forma significativa el grado de envejecimiento.

Diversos estudios en modelos experimentales están consiguiendo mostrar un mapa complejo de genes y rutas que parecen regular ciertos aspectos del envejecimiento y que aparentemente se conservan desde levaduras a metazoos. Estos estudios permiten buscar mutaciones que son capaces de modificar la longevidad y, aunque aún parece prematuro extrapolar los hallazgos a mamíferos, resulta plausible pensar que los mismos van a ayudar en gran modo al conocimiento de los mecanismos moleculares del envejecimiento humano. A continuación, se expone un resumen de lo que se conoce en este campo.

8.1. Estudios en *Saccharomyces cerevisiae*

En las levaduras la longevidad se define por el número de divisiones celulares llevada a cabo por la madre antes de que ésta pierda la capacidad de división (Figura 8). Por tanto, aquí la longevidad se caracteriza de un modo más preciso por la progenie que una célula individual genera más que por la edad cronológica de la misma.

El análisis genético del envejecimiento en levaduras se inició clonando los genes que se expresan

diferencialmente a lo largo de la vida. Dichos genes constituyen algo así como un fenotipo secundario de la longevidad. Hasta la fecha se han descrito numerosos genes que afectan a la longevidad en levaduras.

Los **genes *LAG***: el gen *LAG1* (***L**ongevity-**A**ssurance **G**ene **1***: gen 1 de los que aseguran la longevidad) y el gen *LAG2* se expresan de forma preferente en células jóvenes, indicando que sus productos ejercen un efecto específico en esta etapa de la vida (si bien el efecto exacto se desconoce). La deleción en el gen *LAG1* produce un aumento en la capacidad replicativa de las células. La deleción del gen *LAG2* en una cepa haploide no afecta al crecimiento pero causa una drástica reducción en la vida. Sin embargo, la sobreexpresión de *LAG2* aumenta de forma importante la longevidad en la levadura.

En general, se desprende de los numerosos experimentos realizados, que el nivel y tiempo de expresión de *LAG2* a lo largo de la vida son importantes para la longevidad de la levadura. Se ha propuesto que la proteína derivada del gen, la lag2, actúa a nivel mitocondrial. También se ha propuesto una interacción de *LAG2* con la ruta del Ras-AMPc.

Los **genes *RAS*** (1 y 2) forman parte de la ruta de señalización celular implicada en la detección del estado nutricional de la célula y en la respuesta a diferentes tipos de estrés. Estos genes están altamente conservados en muchos organismos y son funcionalmente intercambiables entre las células de levadura y humanas.

Las dos proteínas Ras son moléculas reguladoras clave en una importante ruta de señalización celular (son reguladores de la adenilato ciclasa), estableciendo un vínculo entre el estatus nutricional y los niveles intracelulares de AMPc con el crecimiento y la división celulares. Cualquiera de los dos genes por sí solo es suficiente para que la célula sea viable; sin embargo, la deleción de los dos a la vez tiene consecuencias letales. Los mutantes *Ras2* no son capaces de crecer sobre una fuente de carbono no fermentable.

Los genes *RAS* están implicados en la longevidad de *S. cerevisiae*, pero presentan un comportamiento diferente cada uno de ellos. Así, la sobreexpresión de *RAS1* no tiene efecto sobre la vida de la levadura, mientras que su deleción la aumenta en aproximadamente un 30%. La sobreexpresión de *RAS2* no sólo extiende la vida, sino que además retarda el envejecimiento.

El gen *RAS2* participa al menos en dos cascadas de señalización diferentes, una implica la estimulación de la adenilato ciclasa y la otra es una clásica ruta del tipo MAP kinasa. Estas rutas pueden regular la actividad metabólica y la proliferación celular, así como la respuesta frente al estrés. Resulta evidente, por tanto, que el control de la duración de la vida pasa por un aumento en la capacidad metabólica en la levadura, ya que dicha vida se mide por el número de divisiones o células hijas producidas.

Existen nuevas pruebas que redundan en la importancia del control metabólico sobre la longevidad. Así, se ha descubierto cierta interacción entre el gen *PHB1*, homólogo del gen humano de la prohibitina, y el gen *RAS2* con relación al control de la duración de la vida. Esta interacción se ha observado sólo en las levaduras *petite*, cuyas mitocondrias no son funcionales. Por tanto, parece que existe una conexión entre estos dos genes y las mitocondrias en cuanto a los ajustes metabólicos que determinan la longevidad.

Los **genes *SIR*** y el **silenciado** de la cromatina se han revelado como claves del envejecimiento. El silenciado es un proceso por el cual regiones enteras de un cromosoma con bloques de genes se convierten en transcripcionalmente inactivas. En levaduras, dicho proceso se lleva a cabo por un complejo de proteínas reguladoras de la información silente, las llamadas proteínas Sir, del inglés ***S**ilent **I**nformation **R**egulator*. Se trata, en concreto, de las Sir2, Sir3 y Sir4, que actúan a nivel de telómeros.

El primer nexo de unión entre el silenciado de genes y el envejecimiento se estableció tras la identificación de la mutación de longevidad *SIR4-42*, la cual redirige el complejo Sir2/3/4 lejos de los telómeros y los *loci HM* hacia la región del genoma que codifica para el RNA ribosómico (DNAr). Posteriormente, se ha confirmado que la cantidad de Sir2 en el DNAr sirve para predecir la longevidad, de modo que las cepas con una deleción en *SIR2* tienen una vida más corta que las salvajes, mientras que las cepas con una copia extra de este gen presentan una longevidad mucho mayor.

Hasta hace poco tiempo el modo de actuación, así como el papel bioquímico de Sir2 han permanecido ocultos. Las primeras observaciones mostrando que una sobreexpresión de Sir2 causaba

la deacetilación global de histonas indujo a pensar que esta proteína era una histona deacetilasa. Sin embargo, hoy se sabe que su principal actividad es como ADP ribosil transferasa NAD dependiente, si bien esta función sirve en efecto para activar una potente actividad histona deacetilasa al parecer de gran importancia en el proceso de silenciado.

8.2. Estudios en *Caenorhabditis elegans*

Se han descrito tres mecanismos genéticos que controlan el grado de envejecimiento en este nematodo.

El **primer mecanismo** implica a genes que afectan la ruta por la cual se detiene el desarrollo cuando las condiciones ambientales no son las adecuadas. En estas condiciones se forman larvas resistentes (*dauer*) y ocurre, por ejemplo, cuando se reduce el aporte de nutrientes o un exceso de población. Estas larvas, más pequeñas que las normales, se encuentran en una especie de letargo en el que no comen. Su formación tiene lugar por exposición a una determinada feromona (cuando la ratio entre esta feromona y la cantidad de comida disponible aumenta hasta un punto concreto).

Los genes *Age-1*, *daf-2* y *spe-26* son genes mutados en el sistema *dauer*. Estos genes afectan al desarrollo mediante la formación del estado de latencia en el estado L2 del desarrollo larvario y como consecuencia dan lugar a individuos más longevos en su estado *posdauer*. Los genes mencionados controlan la situación mediante una cascada de señalización similar a la de la insulina, la cual a su vez regula la actividad del factor de transcripción *daf-16*.

El **segundo mecanismo** está formado por los llamados genes reloj (*clock-genes*), en concreto, los *clk-1*, *clk-2*, *clk-3* y *gro-1*. Si bien su acción es menos conocida, está claro que afectan al metabolismo y que aumentan la longevidad a través de una reducción en el ritmo vital. Esta característica hace a este mecanismo diferente de los otros dos estudiados, en los cuales el aumento de la vida se produce a tasas metabólicas normales.

El **tercer mecanismo** que extiende la vida en *C. elegans* se controla a través de los genes *eat*, que son muy numerosos. El mutante *eat-2* es uno de los más activos y crea defectos en el comportamiento y la fisiología de la alimentación. Tales defectos reducen la ingesta de alimento: se trataría de algo así como de un proceso de restricción energética. Estos genes son capaces de extender la vida del nematodo en un 50%.

8.3. Estudios en *Drosophila melanogaster*

Estudios sobre **mutaciones génicas**. Mutaciones en genes específicos también pueden aumentar la longevidad en la mosca de la fruta al igual que ocurre en *C. elegans* y *S. cerevisiae*. Así, una mutación en el gen *mth* o *methuselah* (matusalén) aumenta la vida de estas moscas en aproximadamente un 35%. Por tanto, en el fenotipo salvaje, este gen lo que hace es acortar la vida. Sin embargo, los individuos sin el gen *mth* mueren antes de llegar a la vida adulta, lo que sugiere que dicho gen tiene un importante papel durante el desarrollo.

Los mutantes *mth* son resistentes a diferentes tipos de estrés tales como el ayuno, las altas temperaturas y el paraquat (un generador de radicales libres). Este gen codifica para un receptor de membrana acoplado a una proteína G, lo que sugiere que es una ruta de señalización celular la que regula la longevidad y la resistencia al estrés en este animal.

Otra mutación de un gen individual da lugar a un aumento de casi el doble en la vida media de la *Drosophila* adulta sin alterar su fertilidad y actividad física. Se trata del gen *Indy* (***I**'m **n**ot **d**ead **y**et:* "Todavía no estoy muerto"), que tiene su homología en mamíferos en una proteína de membrana con función de cotransportador implicada en el transporte de intermediarios del ciclo de Krebs. Se piensa que la mutación en el gen *Indy* puede generar un estado metabólico similar al de la restricción energética.

Estudios con transgénicos. Numerosos estudios han sido realizados en *Drosophila* mediante el empleo de transgénicos. Éstos han permitido generar moscas con genes modificados en su estructura o número. Así, partiendo de hipótesis tales como la del estrés oxidativo, se han producido mutantes que son capaces de defenderse mejor de este estrés, con el fin de estudiar si esta mayor capacidad de defensa da lugar a una extensión de la vida.

En la línea acabada de describir, se han diseñado los mutantes *sod* y *cat*, a los cuales se les dotó con tres copias de cada uno de esos genes, que codifican respectivamente para superóxido dismutasa y catalasa. Los resultados obtenidos mostraron que tales mutantes vivían un 30% más que los respectivos controles salvajes. Se demostró, además, que para ese aumento de longevidad era necesaria la manipulación de ambos genes y no sólo de uno de ellos.

Otro ejemplo de mutantes transgénicos con alta capacidad de resistencia al estrés por ayuno, altas temperaturas y radicales libres son los relacionados con la sobreexpresión de la chaperona *hsp70*. Mutantes con 12 copias para este gen son capaces de vivir entre un 8 y un 12% a temperaturas normales cuando previamente se les ha aplicado un ligero estrés por calor.

8.4. Estudios en mamíferos

Básicamente, los estudios genéticos en mamíferos se han limitado al ratón. En éste se ha estudiado con profundidad una mutación que afecta al gen que codifica para la proteína **p66^{shc}**. La proteína p66^{shc} pertenece a la familia de las llamadas proteínas adaptadoras, las cuales transmiten la señal mitogénica desde los factores de crecimiento extracelulares al interior celular. Esta proteína contiene los mismos dominios que sus parientes más cortos (p52^{shc} y p46^{shc}), así como una región específica amino terminal. Al igual que los mencionados parientes, la p66^{shc} puede ser fosforilada en tres tirosinas tras su activación por factores de crecimiento hasta formar complejos estables con la proteína Grb2, el siguiente componente de la cascada mitogénica.

La mutación de la p66^{shc} aumenta de forma significativa la resistencia al estrés oxidativo en los ratones que la poseen, además de dar lugar a un incremento en la longevidad de aproximadamente un 30%. No está claro cuál es el mecanismo a través del cual la p66^{shc} ejerce sus efectos. Una posibilidad es que en el tipo salvaje la pérdida de células como resultado de la apoptosis inducida por estrés acelere el envejecimiento. Como dicha apoptosis es bloqueada en los mutantes p66^{shc}, se produce un aumento de la longevidad. Otra posibilidad es que los mutantes sufran menos estrés oxidativo, estén más sanos y, por tanto, menos expuestos a los efectos de la apoptosis.

Los **ratones enanos *Snell*** (*Snell dwarf mice*) presentan una mutación que altera el desarrollo de la hipófisis, evitando la producción de hormona de crecimiento, tirotropina y prolactina. Estos enanos presentan una longevidad superior en un 25-50% con respecto a los ratones normales, si bien son mucho más pequeños que éstos.

9. Senescencia celular replicativa

Como se ha mencionado en el apartado correspondiente, uno de los modelos para estudiar el envejecimiento consiste en el uso de cultivos celulares. También se ha comentado la característica que hace útiles los cultivos celulares para el estudio del envejecimiento, su limitada capacidad de dividirse. Esta limitación en el número de divisiones celulares se conoce como "limite de Hayflick", y en cierto modo lo que indica es que la célula envejece tal y como lo hace el organismo, ya que la célula senescente, aunque muestra cambios (tanto funcionales como morfológicos), sigue estando activa o "viva", incluso puede mantenerse años en este estado no proliferativo. Por lo tanto, el envejecimiento se podría ver, desde este punto de vista, como la suma de las alteraciones en las células individuales del organismo.

Como se ha indicado, las células senescentes permanecen metabólicamente activas, pudiéndose mantener en cultivos celulares por periodos de tiempo más o menos largos (años en el caso de fibroblastos o semanas en el caso de células de endotelio vascular). Al parecer, este tiempo guarda relación con la frecuencia apoptótica de cada tipo celular, ya que la muerte celular es su destino final.

La principal característica de las células senescentes es su incapacidad para responder a estímulos mitóticos, aunque también presentan numerosas alteraciones en su morfología y funciones. Se han observado incrementos en el tamaño celular, nuclear y lisosomal, una mayor masa mitocondrial, alteraciones en el citoesqueleto, disminución de la fluidez de membrana, menor proporción de migración, acumulación de lipofucsina, etc.

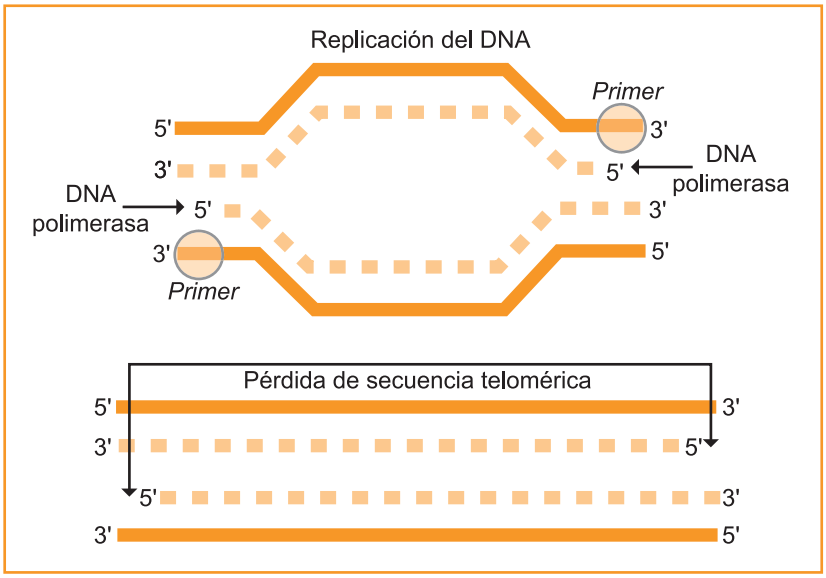


Figura 9. *Esquema del problema de fin de replicación en la senescencia replicativa.*

Todo esto unido a la alteración en la expresión de diversos genes involucrados en numerosas vías como la del control del ciclo celular, respuesta ante el estrés, señales de transducción y transcripción, matriz extracelular, etc. Sin embargo, hay que indicar que no siempre existe un mismo conjunto de cambios para todas las células.

9.1. Telómeros

¿Cuál es la causa de la senescencia replicativa? Son varios los estímulos que pueden desencadenarla en células normales, entre los que se encuentran ciertos niveles de daño en el DNA, estrés oxidativo, alteraciones en la cromatina y la expresión de ciertos oncogenes como el mutante *RAS*.

La respuesta a la pregunta anterior parece encontrarse fundamentalmente en los telómeros, del griego "telos" (final) y "meros" (componentes), los cuales son unas estructuras situadas al final de los cromosomas, encargadas de mantener la integridad de las terminaciones cromosómicas, evitando que se produzcan enmarañamientos o que se adhieran unos a otros, y ayudando a que los cromosomas homólogos se emparejen adecuadamente y se entrecrucen durante la profase de la meiosis. Su integridad es, por tanto, de vital importancia para evitar la pérdida de secuencias de DNA interiores.

Los telómeros forman parte del DNA estructural del genoma eucariótico, constituyendo una de las denominadas "secuencias simples" del DNA, ya que están formados por un número alto de repeticiones, de cientos a miles, de una secuencia corta que leída en sentido 5'→ 3' es "TTAGGG". El número de repeticiones o longitud del telómero es variable, dependiendo entre otros factores del genotipo, tipo de célula e historia celular replicativa. Esta secuencia repetitiva disminuye su tamaño en cada proceso de división celular, y esta disminución en la longitud de los telómeros parece ser una de los principales responsables de la entrada en el estado de senescencia replicativa por parte de la célula.

La pérdida de la secuencia telomérica se debe al denominado "problema de fin de replicación". Para la replicación del DNA, la DNA polimerasa requiere la utilización de una pequeña secuencia de nucleótidos o *primer* en cada uno de los extremos 3' del DNA, la cual no es replicada. Dicha secuencia forma parte de los telómeros, lo que conduce a que en cada fase S del ciclo celular se produzca una pérdida de secuencia telomérica 3'. En la **Figura 9** se representa de manera esquemática este problema de fin de replicación.

Esta pérdida sucesiva de secuencia telomérica da lugar a un acortamiento progresivo de los telómeros y aparentemente, al llevar a un determinado número de divisiones celulares (conocido como "límite de Hayflick") o, lo que sería lo mismo, a un determinado acortamiento de los telómeros, la célula reconoce a los mismos como no funcionales y entraría en el estado de senescencia. Este acortamiento de los telómeros ha dado lugar a la denominada "teoría de los telómeros del envejecimiento", ya comentada en el apartado correspondiente. Esta teoría se basa en que la disfunción de los telómeros puede contribuir al proceso de envejecimiento mediante la inducción de la senescencia celular.

A favor de esta hipótesis existen múltiples evidencias como, por ejemplo, que los telómeros son

más cortos en ciertos tejidos en gente anciana que en gente joven. Además, en determinadas enfermedades con un marcado envejecimiento prematuro (progeria de Hutchinson-Gillford, síndrome de Werner y síndrome de Down, p. ej.) se ha demostrado la existencia de telómeros más cortos y/o un acelerado acortamiento de los mismos. Por otro lado, existen las llamadas células "inmortales". Las células germinales y embrionarias, las células eucariotas unicelulares (como el paramecio) y las células tumorales escapan de este "reloj" biológico gracias a que poseen una estructura capaz de restaurar la secuencia del telómero que les permite prolongar la vida de la célula manteniendo su capacidad para multiplicarse. Esta estructura es la denominada telomerasa.

9.2. Telomerasa

La telomerasa es un complejo ribonucleoproteico que actúa como una transcriptasa inversa especializada y que es capaz de adicionar secuencias teloméricas repetidas sobre el extremo 3' sobresaliente (el utilizado como *primer* por la DNA polimerasa), permitiendo así adicionar secuencias teloméricas perdidas. Este complejo está constituido por al menos tres componentes: la subunidad catalítica, denominada transcriptasa inversa telomerasa; una proteína, denominada proteína 1 asociada a la telomerasa; y la subunidad de RNA telomerasa, constituida en humanos por 445 nucleótidos con una secuencia de 11 nucleótidos repetidos y codificados para la secuencia repetida de los telómeros. Aunque la proteína 1 asociada a la telomerasa no parece regular la actividad de la enzima, sí parece presentar una importante función en el anclaje de la subunidad catalítica y el RNA de la telomerasa.

Existe un gran número de estudios, tanto *in vitro* como *in vivo*, que soportan la hipótesis de que la activación o inhibición de las telomerasas da lugar en la célula a distintas vías de inmortalización o senescencia. En primer lugar, estudios sobre la actividad de esta enzima en cultivos celulares y tejidos humanos mostraron que estaba presente en prácticamente el total de las poblaciones de células inmortales estudiadas y en ninguna de las poblaciones de células normales. Asimismo, era activa en 90 de 101 biopsias de 12 tipos diferentes de tumores y en ninguno de los 50 tejidos somáticos estudiados. Finalmente, mostró actividad en ovarios y testículos, aunque no en tumores benignos.

Los estudios anteriores han demostrado además que la actividad telomerasa está inhibida en tejidos somáticos normales pero se reactiva en situaciones de cáncer, en donde es necesaria la presencia de células inmortales para mantener el crecimiento tumoral. En segundo lugar, que la inhibición de la telomerasa inhibe la capacidad proliferativa de células embrionarias y hematopoyéticas y disminuye la proliferación celular y/o incrementa la muerte celular mediante apoptosis en cultivos celulares de células inmortalizadas o cancerígenas. Por el contrario, la inducción artificial en la expresión de telomerasa previene del acortamiento de telómeros y la senescencia en fibroblastos humanos, células endoteliales de la retina y otras.

9.3. Otros factores que hay que considerar en la senescencia replicativa

Existen otros mecanismos no teloméricos (aunque en algunos casos asociados a éstos) que también inducen senescencia celular (aunque parecen ser menos claros que los dependientes de telómeros).

Así, un gran número de proteínas ha sido asociado a los telómeros, mostrando diversos estudios su importancia en el mantenimiento de la integridad de los mismos. Por otra parte, si bien la longitud del telómero es importante, tanto o más lo es su estructura, por ejemplo, se ha observado la formación de una especie de bucle o lazo al final del telómero que protege el extremo 3' sobresaliente de la degradación y además parece limitar el acceso al telómero por parte de la telomerasa. Existen ciertas proteínas reguladoras o puntos de control senescentes. En este sentido, se ha observado que la telomerasa es incapaz de prevenir la entrada en la senescencia replicativa inducida por disfuncionalidad en los telómeros (bien por acortamiento o por alteraciones estructurales en los mismos) de algunas células endoteliales humanas salvo que se suprima la expresión de la proteína p16, una proteína supresora tumoral.

A lo anteriormente comentado se une el hecho de que la respuesta senescente por disfunción te-

lomérica requiere intactas las vías del p53 y pRb, ambas consideradas proteínas supresoras de tumores. p53 y pRb son reguladores críticos en las vías de parada del ciclo celular o apoptosis. Mutaciones en sus vías pueden dar lugar a que la célula no responda correctamente a las señales que indican inhibición proliferativa cuando los telómeros comienzan a ser demasiado cortos o no funcionales. Además, se ha observado que estas proteínas inhiben la actividad telomerasa.

La mayoría de las células responde frente a la disfuncionalidad telomérica mediante su entrada en el estado de senescencia replicativa, para lo cual se requieren intactas las vías del p53 y de pRb. En algunas ocasiones, se observan alteraciones en los puntos de control de este estado senescente. Así, cuando aparecen mutaciones a este nivel, el p53 asegura la muerte de estas células senescentes por apoptosis, lo cual constituye una segunda respuesta celular frente a la disfunción telomérica (*ver Capítulo 1.32*).

Una tercera opción, la cual está condicionada por la inactivación de las vías anteriormente citadas (p53 y pRb), es un mayor acortamiento de los telómeros, por debajo del límite de Hayflick, entrando entonces la célula en un estado de gran inestabilidad genómica denominado "crisis". Las células en crisis intentan proliferar, y aunque en la mayoría de los casos la célula muere debido a que tanto el acortamiento de los telómeros como la inestabilidad del DNA son bastante graves, en algunas ocasiones las células son capaces de encontrar vías que les permiten estabilizar sus telómeros. Una de estas vías consiste en la expresión de telomerasas o recombinaciones homólogas que permiten mantener o elongar los telómeros. En este caso, se mantiene la capacidad de proliferación indefinida, si bien existe una alta probabilidad de transformación maligna.

Así, las consecuencias de la disfunción telomérica podrían ser tres: la senescencia, la muerte celular y la inestabilidad genómica. La inestabilidad genómica predispone claramente a las células hacia un fenotipo maligno, por lo que la senescencia y la muerte celular se considerarían como una respuesta supresora del tumor que previene la proliferación o supervivencia de células con riesgo de desarrollar inestabilidad genómica. La **Figura 10** muestra de manera esquemática un resumen de lo comentado en todo este apartado.

9.4. Senescencia replicativa, envejecimiento y cáncer

Según lo visto hasta ahora, la respuesta senescente celular es bastante compleja. Implica cese en la proliferación, pérdida o alteración en el material genético, activación de genes senescentes y desactivación de genes de longevidad, acumulación de productos de desecho, etc.

Una pregunta que queda por responder es: ¿cómo pueden contribuir las células en senescencia replicativa al proceso de envejecimiento del organismo? Para contestar a esta pregunta sería necesario considerar dos aspectos de gran importancia: primero que las células senescentes presentan un patrón de comportamiento y expresión génica alterado con respecto a las células en división. En segundo lugar, se ha observado su acumulación con la edad. Así, la contribución de la senescencia replicativa al envejecimiento podría encontrarse en el fenotipo resultante de esta parada en el ciclo celular y en la acumulación de células en estado de senescencia.

El fenotipo senescente celular lleva asociados cambios funcionales en la célula y, por tanto, en sus patrones secretores. Estos cambios, unidos a la acumulación de células que los presentan, pueden influenciar de diversas maneras en la funcionalidad e integridad de los tejidos. A esto hay que añadir el hecho de que un número limitado de divisiones podría alterar la función del tejido en los últimos compases de la vida.

Son varios los vínculos que se han sugerido entre senescencia replicativa *in vitro* y envejecimiento *in vivo*. Entre éstos se encuentran la observación de que la vida media *in vitro* de células provenientes de diversas especies de mamíferos se correlaciona con sus vidas medias *in vivo*. Además, está el hecho de que células provenientes de individuos que presentan desórdenes asociados a un envejecimiento prematuro (síndrome de Werner, progeria y síndrome de Down) tienen una vida media *in vitro* menor que las células procedentes de individuos normales. También se ha observado que ratones que han sido genéticamente manipulados para perder su actividad telomerasa muestran una disminución en su vida media, así como una reducción en su capacidad para responder a diversos tipos de estrés.

Otra posible pregunta sería: ¿por qué las células entran en senescencia? La senescencia se ve

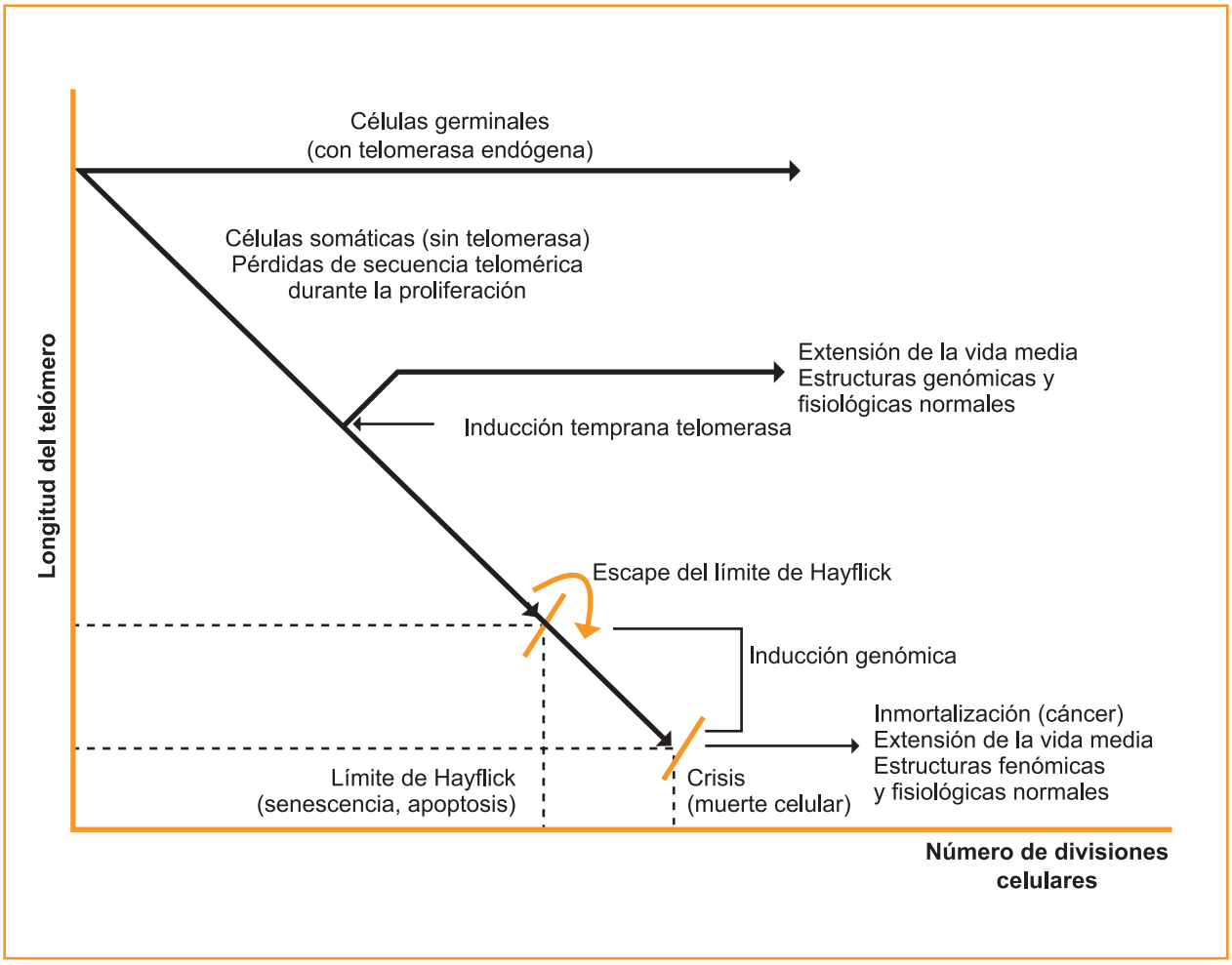


Figura 10. *Esquema de las consecuencias de la senescencia replicativa dependiente de telómeros.*

como un mecanismo evolutivo para disminuir la aparición de cáncer. Al mismo tiempo, se ha comentado que la senescencia replicativa también contribuye al envejecimiento. Esto claramente constituye un ejemplo de pleiotropía antagonista que podría entrar dentro de la teoría evolutiva del envejecimiento. Así, la parada del ciclo celular por senescencia podría ser un aspecto seleccionado para evitar la aparición de tumores durante la juventud. Sin embargo, el fenotipo alterado de estas células sería el aspecto negativo, que, si bien pasaría desapercibido en organismos jóvenes, debido al bajo o nulo número de células senescentes, sería notable en la vejez, por la acumulación de las mismas. También este incremento contribuiría a la mayor proporción de cáncer asociada a la edad **(Figura 3)**.

Para finalizar, hay que indicar que, al igual que ocurre con la mayoría de las teorías que intentan explicar el envejecimiento, la teoría de los telómeros presenta numerosas lagunas. Así, la senescencia replicativa se basa en la incapacidad de proliferar, pero no todos los sistemas del organismo presentan una alta tasa de *turnover* celular. De este modo, la senescencia replicativa es más aplicable a aquellos sistemas que muestran una alta proporción de división celular y que, por lo tanto, podrían verse limitados por este estado celular. Ahora bien, entre estos sistemas se encuentran algunos de los más importantes involucrados en el envejecimiento, tales como el sistema inmune, el hematopoyético, piel, sistemas de reparación de tejidos y células, etc. Incluso, células de vital importancia sin capacidad de replicación como las neuronas, dependen

en parte de células que sí se dividen, como son los astrocitos.

10. Terapias antienvejecimiento

El envejecimiento como proceso presenta un grado de variabilidad individual muy alto. Así, por ejemplo, cuando hay predisposición genética para sufrir una patología relacionada con la edad, como ocurre en el caso de individuos portadores de dos copias del alelo ε-4 para el gen de la apolipoproteína E, lo que les confiere mayor predisposición a sufrir Alzheimer, sólo se produce un pequeño aumento en la probabilidad de sufrir demencia. Esto plantea el hecho de que un determinado grado de envejecimiento o la aparición de una patología asociada al mismo tiene lugar como consecuencia de la interacción entre genes y hábitos de vida.

Anteriormente ya se ha comentado la estimación en un 25% del peso relativo que la carga genética tiene sobre la duración de la vida. Esto significa, por tanto, que el 75% de la responsabilidad recae sobre variables relacionadas con los hábitos de vida, tales como la nutrición y ejercicio físico, además de factores ambientales propios del lugar donde se vive, la sanidad, conflictos sociales, etc.

El hecho de que los hábitos de vida y el ambiente puedan influir de modo tan determinante en el proceso del envejecimiento ha dado lugar a la búsqueda de sustancias que retrasen su aparición o que aumenten la duración de la vida. Para referirse a estas sustancias se ha acuñado el término de "geroprotectores", es decir, sustancias que defienden del envejecimiento. Éstas deben ser distinguidas de los fármacos empleados en geriatría, que son prescritos a las personas ancianas para tratar sus dolencias, mientras que los otras deben ser tomados, durante la vida joven o adulta, de un modo más bien preventivo.

10.1. La nutrición como terapia antienvejecimiento

Desde hace mucho tiempo se ha relacionado la nutrición con el envejecimiento. Esta relación se ha centrado básicamente en los estudios de restricción energética y en la suplementación con sustancias antioxidantes. Más recientemente, se han realizado estudios encaminados a estudiar el papel de la grasa de la dieta desde el punto de vista del estrés oxidativo como terapia antienvejecimiento (*ver Capítuo 3.14*).

10.1.1. Restricción energética

El papel de la restricción energética o, lo que es lo mismo, de la limitación de la ingesta de alimentos, fue descrito por primera vez en 1935 por McCay *et al*. Desde entonces, se ha descrito que la restricción energética aumenta la vida media en un amplio rango de especies y en roedores, además, disminuye la velocidad con que aparecen determinadas enfermedades relacionadas con la edad. Este efecto se lleva a cabo a través de una reducción en el estrés oxidativo. Esto se sustenta, entre otras cosas, en la observación de que ratones a los que se restringe la energía de la dieta generan un menor estrés oxidativo que sus homólogos alimentados *ad libitum*, produciendo además un menor índice de oxidación de lípidos, proteínas y DNA.

La restricción energética además previene muchos de los cambios que tienen lugar a nivel de expresión génica durante el envejecimiento, entre los que se incluyen la elevación en la expresión de las proteínas de shock térmico y la atenuación de la expresión de la proteína inducida por estrés Hsp70. La restricción energética podría ser una potente arma terapéutica para luchar contra el envejecimiento, ya que, en principio, cumple con los requisitos exigibles de efectividad frente a la reducción del estrés oxidativo y al retardo del envejecimiento y de las enfermedades asociadas al mismo. No obstante, la posible aplicación de la restricción energética como terapia antienvejecimiento en la población humana acarrea tales dificultades éticas y de tipo práctico que hacen prácticamente inviable su puesta en marcha.

10.1.2. Antioxidantes

Como se ha puesto de manifiesto en los puntos anteriores, el estrés oxidativo desempeña un pa-

pel muy significativo en el proceso global del envejecimiento y, por tanto, la suplementación con antioxidantes podría ser de utilidad como posible terapia antienvejecimiento. Entre los primeros estudios, cabe destacar los de Miquel y Ecónomos en relación a la capacidad del carboxilato de tiazolidina de aumentar la vitalidad y prolongar la vida media en ratones. Posteriormente, Furukawa *et al.* mostraron el papel protector de la administración oral de glutatión frente al declive de la función inmune asociada al envejecimiento. Muchos otros antioxidantes han sido probados en relación con el envejecimiento, con resultados más o menos positivos. Entre dichos antioxidantes cabe destacar las vitaminas E y C, el coenzima Q, extractos herbales ricos en flavonoides y polifenoles, y otros. Si bien los resultados obtenidos con estos antioxidantes han sido exitosos en cuanto a la atenuación del estrés oxidativo mediado por la edad o por enfermedades asociadas a la misma, han tenido poco o ningún éxito con relación al aumento de la longevidad.

Tal vez para tener un mayor éxito con la terapia basada en antioxidantes se debería profundizar en el conocimiento de las propiedades farmacológicas de las sustancias empleadas, sobre todo en lo concerniente a la absorción, distribución tisular y metabolismo de las mismas. Además, no se debe olvidar el papel que las ROS tienen en la señalización celular, de modo que la dosis de antioxidante debe ser muy bien ajustada para evitar cambios en el estado redox que pudieran alterar la función celular. Los problemas anteriores están siendo solucionados en parte mediante el uso de una nueva generación de sustancias antioxidantes sintéticas, miméticos de la superóxido dismutasa y la catalasa. Estas sustancias están siendo ensayadas con cierto éxito, habiéndose mostrado efectivas en el aumento de la longevidad en ratones y *C. elegans*.

10.1.3. Ácidos grasos de la dieta

El tipo de grasa de la dieta condiciona de manera importante numerosos parámetros bioquímicos en la membrana mitocondrial. La importancia del tipo de ácidos grasos de la dieta reside en el hecho de que la membrana mitocondrial (y, en general, todas las membranas biológicas) es capaz de adaptar la composición de sus fosfolípidos a la grasa ingerida de forma mayoritaria. De este modo, si un individuo ingiere mayoritariamente grasa de origen animal, sus membranas serán más ricas en ácidos grasos saturados que las de otro individuo cuya fuente grasa mayoritaria sea de origen vegetal.

Por otro lado, se han descrito de forma contundente cómo se producen adaptaciones del sistema de transporte electrónico mitocondrial con relación al tipo de grasa de la dieta, con mayor o menor repercusión sobre los diversos complejos del sistema. Además, el estrés oxidativo está relacionado con la composición lipídica de las membranas biológicas, de modo que una fuente grasa poliinsaturada (aceite de girasol, p. ej.) generará membranas más susceptibles al daño oxidativo que una fuente saturada (grasa animal) o monoinsaturada (aceite de oliva), lo cual ha sido ampliamente demostrado en numerosas situaciones fisiológicas y patológicas y empleando numerosos modelos animales y humanos.

Los resultados obtenidos en este campo apuntan las siguientes conclusiones: el envejecimiento, entendido como un proceso endógeno y progresivo, da lugar a lo largo de la vida a alteraciones en la mitocondria y componentes de la misma como el DNAmt (alteraciones que tienen un elevado componente oxidativo). Estas alteraciones deterioran la estructura y función mitocondriales, y dependiendo de la capacidad del tejido en concreto para reparar el daño o eliminar la célula alterada, la función tisular se verá afectada en mayor o menor grado.

Así, los tejidos con capacidad regenerativa como el hígado parecen ser capaces de tamponar el daño ocasionado, tal y como sugiere la ausencia de pérdida de función mitocondrial en términos de actividad citocromo oxidasa. Sin embargo, se produce una pérdida de función en tejidos posmitóticos como el músculo esquelético o el corazón, sin capacidad para reemplazar células y probablemente con un sistema de reparación de daño menos efectivo (existen diferencias entre hígado y corazón en relación con el sistema de reparación de DNAmt). Esta pérdida de función se refleja en el descenso brusco de la actividad citocromo *c* oxidasa, lo que da lugar a un desacoplamiento de la CTEmt, con la consiguiente ineficacia bioenergética y el aumento en la producción de ROS.

Las mitocondrias de los tejidos posmitóticos tratan de atenuar la situación desfavorable median-

te el aumento de otros componentes de la CTEmt como el citocromo *b* o por medio de aumentos en el grado de poliinsaturación, probablemente para tratar de aumentar la fluidez y la actividad de la citocromo oxidasa restante mediante la presencia de una cardiolipina más poliinsaturada. Sin embargo, ambas acciones dan lugar a un aumento mayor en la producción de radicales libres. El papel de la grasa de la dieta en este mecanismo residiría por tanto en la construcción de un entorno más o menos susceptible para la generación y propagación de ROS, especialmente cuando, como consecuencia de procesos como el envejecimiento, tienen lugar los fallos en la CTEmt.

10.2. Tratamientos hormonales

10.2.1. Hormona de crecimiento

Como se vio en el apartado 3 de este mismo Capítulo, uno de los cambios más evidentes durante el proceso de senescencia es la pérdida de masa muscular y el aumento corporal de grasa. Lo anterior depende, en parte, del descenso que se produce con la edad en los niveles de hormona de crecimiento, lo cual comienza a manifestarse a partir de los 30 años de edad. Estas observaciones han dado lugar a la sugerencia de que los cambios que se producen en el individuo con la edad dependen en gran parte de los cambios en la hormona de crecimiento que en el mismo tienen lugar y, por tanto, una terapia de reposición de la hormona podría retardar el proceso de envejecimiento.

En efecto, numerosos estudios en individuos tratados con hormona de crecimiento han mostrado resultados positivos en cuanto a la recuperación de masa muscular y pérdida de grasa. No obstante, hay que tener en cuenta que la hormona de crecimiento acelera el metabolismo óseo, lo cual potencia la aparición del síndrome del túnel carpiano, habiéndose observado también ginecomastia.

En animales de experimentación, además de los efectos beneficiosos sobre la masa grasa y muscular, se han observado descensos en su mortalidad. Sin embargo, se ha visto que en esos mismos animales, el tratamiento prolongado con la hormona aumentó de forma significativa el desarrollo de tumores. Por tanto, a pesar del entusiasmo que se ha observado de su uso en clínica, es necesario ser muy cuidadoso en su recomendación.

10.2.2. Deshidroepiandrosterona (DHEA)

En los últimos años ha crecido el interés por este metabolito de la glándula adrenal dotado de importantes propiedades biológicas cuya producción disminuye con la edad. Se ha observado que la DHEA inhibe la síntesis de DNA y la producción de superóxido en los tejidos, disminuye el peso corporal y tiene propiedades antiaterogénicas, antidiabéticas y antiautoinmunes.

En animales de laboratorio, la suplementación con DHEA aumenta el grado de supervivencia y disminuye la aparición de proteinuria y nefrosis crónica asociadas al envejecimiento. Por otro lado, también previene de la aparición de ciertos tipos de cáncer, a la vez que puede provocar hepatomegalia y carcinomas hepatocelulares en rata. En humanos, la administración de DHEA a mujeres posmenopáusicas con osteoporosis mejora su condición. En otros estudios, se ha puesto de manifiesto un aumento del bienestar general, tanto físico como psicológico, de los individuos tratados con la hormona.

10.2.3. Estrógenos

La administración de estrógenos a bajas dosis prolonga la vida en animales de laboratorio y disminuye la incidencia de tumores espontáneos (a dosis elevadas se han mostrado con efecto procancerígeno). El papel geroprotector de los estrógenos resulta de un elevado atractivo, pues se debe sumar a su utilidad en la prevención de osteoporosis en mujeres posmenopáusicas. Parte del mecanismo geroprotector de los estrógenos está relacionado con su habilidad para disminuir la ingesta de alimentos y el ritmo de crecimiento.

10.2.4. Melatonina

El uso de melatonina en la terapia antienvejecimiento se basa en dos cosas, por un lado, en el hecho de que esta sustancia disminuye con la edad y, por otro, en la importancia que la organización

circadiana de los ritmos fisiológicos tiene con respecto a la longevidad. Además, se ha visto que cuando se extirpa la glándula pineal a animales de laboratorio se reduce la vida de los mismos, mientras que la suplementación con melatonina alarga la vida media y máxima en roedores. También el descubrimiento de la capacidad antioxidante de la melatonina juega a favor de su aplicación como geroprotector, así como la observación de que reduce ligeramente la temperatura corporal de los animales.

No obstante lo anterior, hay controversia en relación a la aparición de diversos tipos de tumor tras el uso continuado de melatonina, si bien diversos estudios apuntan la capacidad antitumoral de esta sustancia. En cualquier caso, estos resultados impiden el uso generalizado de melatonina en la terapia frente al envejecimiento.

10.3. Ejercicio físico

Los beneficios que reporta la práctica de ejercicio físico y en general una actividad física adecuada han sido ampliamente documentados. De este modo, la práctica de ejercicio en sí podría ser considerada como una terapia antienvejecimiento en tanto en cuanto se consiga mantener dentro de una normalidad fisiológica parámetros cardiovasculares, antropométricos, oxidativos, inmunológicos, etc., cuyo desajuste según todos los indicios contribuye a la aparición más o menos temprana del fenotipo de envejecimiento.

10.4. Otras sustancias

10.4.1. Ácido succínico

Durante el envejecimiento tiene lugar una pérdida de eficacia energética a nivel mitocondrial, de modo que entre otros eventos tiene lugar un importante descenso en los niveles de oxidación de succinato, como consecuencia de la caída en la actividad de la succinato deshidrogenasa. Dado que el mantenimiento de la funcionalidad celular es importante para posponer, en la medida de lo posible, la aparición del fenotipo del envejecimiento, una hipótesis de trabajo podría ser la suplementación con succinato. Así, diversos estudios en ratas, si bien mostraron poco efecto a nivel de aumento de la vida media, sí han mostrado aumentos importantes en la vida máxima de los roedores cuando su dieta fue suplementada con succinato sódico, así como un descenso en la aparición de tumores espontáneos.

10.4.2. Fármacos contra la diabetes

Se trata de sustancias del grupo de las biguanidas tales como fenformina, buformina y metformina. Éstas, junto a sus efectos hipoglucemiantes, poseen la capacidad de mejorar la utilización tisular de glucosa, de reducir la utilización de ácidos grasos libres como sustrato energético, de inhibir la gluconeogénesis, de reducir los niveles séricos de triglicéridos, colesterol e insulina, y de reducir el peso corporal en animales de experimentación y humanos. Dichas propiedades, junto a su capacidad para disminuir la inmunodepresión metabólica, han servido como base para sugerir su uso como geroprotectores. Así, en experimentos con animales, los medicamentos contra la diabetes han conseguido aumentar la vida media y máxima de roedores hasta en un 26% y reducir la aparición espontánea de tumores. No obstante, aún no se han realizado experimentos en humanos.

10.4.3. Inmunomoduladores

Las disfunciones del sistema inmune con la edad dan lugar a un descenso en la capacidad de defensa frente a las infecciones y a un aumento del riesgo de sufrir tumores, así como enfermedades autoinmunes. En un intento de paliar las mencionadas disfunciones, se han llegado a implantar, en ratones viejos, linfocitos y timo o preparaciones de timo.

En una serie de investigaciones se ha comprobado que diversas preparaciones a base de polipéptidos procedentes del timo de animales jóvenes aumentan la vida en ratones y ratas. Se necesitan, no obstante, futuros estudios que faciliten la aplicación clínica de estas sustancias como geroprotectores.

10.4.4. Enteroabsorbentes

Se han publicado diversos artículos en los que se muestra la capacidad que tienen diversos ente-

roabsorbentes carbónicos administrados en la dieta de aumentar la vida en ratones y de disminuir el desarrollo de tumores espontáneos. Las capacidades anteriores se pueden relacionar con lo descrito en la literatura en relación con las propiedades de la fibra dietética asociadas a la prevención del cáncer en humanos.

10.4.5. Adaptógenos

Cuando se habla de adaptógenos se hace referencia a sustancias que aumentan la resistencia no específica de un organismo, y en particular tienen efectos frente al estrés.

Entre los adaptógenos más estudiados se encuentran el gingseng y las preparaciones de *Eleuterococcus*. Su rango de actividades es bastante amplio y su uso como geroprotectores se fundamenta principalmente en la capacidad que tienen estas preparaciones de proteger y activar la maquinaria genética de la célula, así como en sus efectos sobre el sistema neuroendocrino. Sin embargo, en la actualidad, aún no existen datos suficientes que permitan concluir que los adaptógenos prolongan la vida.

11. Resumen

- El envejecimiento es un declive endógeno y progresivo en la eficacia de los procesos fisiológicos tras la fase reproductora de la vida común a todos los organismos multicelulares. Su importancia radica tanto en el elevado porcentaje de personas mayores de 65 años como en el elevado número de enfermedades asociadas. La vida máxima es la edad a la que el individuo más longevo de una especie determinada ha llegado (110-120 años en humanos). La vida media o expectativa de vida es aquella a la cual el 50% de una especie determinada sobrevive (unos 75 años en el ser humano, en la actualidad).

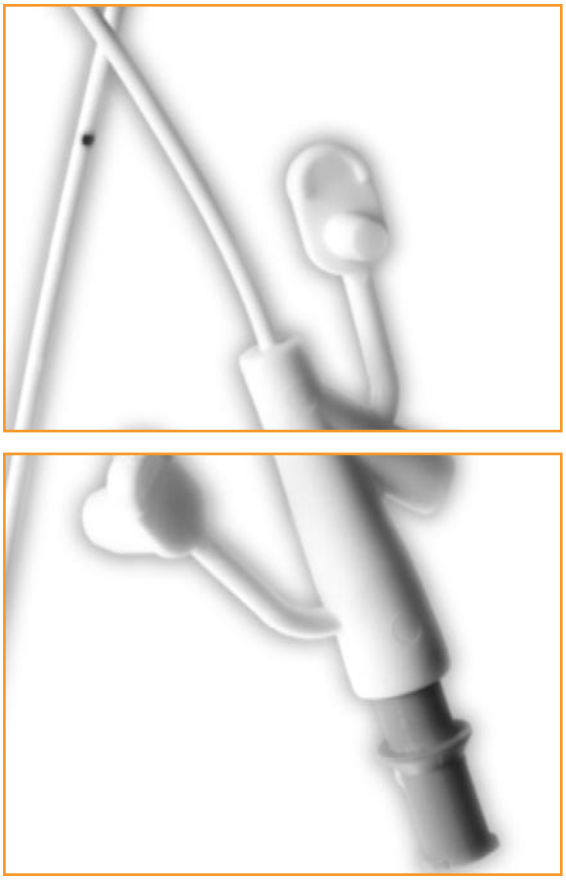
- El envejecimiento conlleva cambios psicológicos y fisiológicos, graduales y progresivos, que no ocurren siempre a la misma velocidad y son muy variables entre individuos. Estos cambios ocurren a nivel de células, tejidos y órganos corporales. El envejecimiento se estudia en modelos experimentales como la levadura *S. cerevisiae*, el nematodo *C. elegans*, la mosca de la fruta *D. melanogaster*, el ratón *M. musculus* y la rata *R. norvegicus*. Se deben conocer estos modelos en profundidad para interpretar de forma correcta los experimentos realizados y su posible extrapolación a humanos.

- Las teorías del envejecimiento (más de 300) se agrupan en teorías estocásticas (aparición de daños al azar) y teorías genético-evolucionistas (el envejecimiento está programado y/o depende de variaciones genéticas debidas a la evolución). Ninguna por sí sola explica el fenómeno en sí. Entre las más reconocidas, está la teoría del estrés oxidativo. Otras teorías son importantes para explicar la senescencia replicativa o la existencia de genes que alargan la vida. La mitocondria es la principal fuente y diana del estrés oxidativo celular. Este estrés oxidativo mitocondrial y la mitocondria en sí resultan de gran importancia desde el punto de vista del envejecimiento.

- El envejecimiento y la longevidad se ven afectados por los genes (tienen una importancia relativa del 25% en la longevidad). No existen genes que controlen el envejecimiento. En lugar de estar programados para morir, los organismos parecen estar programados para sobrevivir, aunque esta programación es imperfecta. Existen genes y rutas que parecen regular ciertos aspectos del envejecimiento, así como diversas mutaciones en estos genes que modifican la longevidad en modelos experimentales.

- La senescencia replicativa conduce a la teoría de los telómeros. Dicha teoría implica que la célula pierde su capacidad de multiplicación conforme se acortan dichas estructuras cromosómicas. La telomerasa, presente en células que no pierden la capacidad de replicación, alarga los telómeros. La senescencia replicativa parece tener gran importancia en la prevención del cáncer, pero evolutivamente conduce a envejecimiento en las etapas adultas de la vida.

- Los hábitos de vida y el ambiente influyen en el envejecimiento. Por esto, se buscan sustancias que retrasen su aparición o que aumenten la duración de la vida. Se trata de "geroprotectores", entre los que se hallan nutrientes, hormonas y fármacos.



12. Bibliografía

Beckman KB, Ames BN. The Free Radical Theory of Aging Matures. Physiological Reviews 1998; 78: 547-81.
Interesante artículo que describe con detalle los aspectos de mayor interés en la teoría de los radicales libres en el envejecimiento.

Campisi J, Kim S, Lim C, Rubio M. Cellular senescence, cancer and aging: the telomere connection. Experimental Gerontology 2001; 36: 1619-37.
Artículo que muestra de un modo claro y conciso cómo la senescencia replicativa puede afectar al desarrollo del cáncer y al proceso de envejecimiento del organismo.

Cutler RG, Rodríguez H (eds.). Critical Reviews of Oxidative Stress and Aging: Advances in Basic Science, Diagnostics and Intervention. Ed. World Scientific. New Jersey, 2003.
Aunque en inglés, este libro es de gran interés para profundizar en el conocimiento de cómo el estrés oxidativo afecta al proceso de envejecimiento desde diversos puntos de vista.

De Pinho RA. The age of cancer. Nature 2000; 408: 248-53.
Interesante artículo que muestra cómo diversos tipos de cáncer incrementan su aparición conforme avanza la edad. Forma parte de un especial de la revista *Nature* sobre el envejecimiento.

Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature 2000; 408: 239-47.
Al igual que el anterior, este artículo forma parte del especial de Nature sobre el envejecimiento, aunque centrado en el papel llevado a cabo por el estrés oxidativo y cómo éste puede afectar a las funciones del organismo durante este proceso.

Guarente L, Kenyon C. Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. Nature 2000; 408: 255-62.
Otro artículo del especial de la revista *Nature*, centrado en la revisión de diversos estudios que muestran cómo vías genéticas de gran interés se ven alteradas durante el proceso de envejecimiento.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd ed. Oxford University Press. Oxford, 1999.
Libro que se centra en el estudio del efecto del estrés oxidativo en la enfermedad, con un apartado relacionado con el envejecimiento.

Kirkwood TBL, Austad SN. Why do we age? Nature 2000; 408: 233-8.
Artículo inicial del especial de la revista *Nature*, que muestra de modo conciso los conocimientos existentes sobre el envejecimiento y que después se desarrollarán en los diversos artículos de este número especial.

Kirkwood TBL. Evolution of ageing. Mechanisms of Ageing and Development 2002; 123: 737-45.
Artículo que muestra, de un modo conciso, la evolución de los estudios sobre el envejecimiento y, por lo tanto, de los conocimientos existentes sobre este proceso.

Mahan LK, Stump SE (eds.). Krauses' Food, Nutrition and Diet Therapy, 11th ed. Saunders. Philadelphia, Pennsylvania, 2004.
Libro de conocimientos generales sobre Nutrición, con el correspondiente apartado de nutrición en edad avanzada.

Mataix J (ed.). Nutrición y alimentación humana. Ed. Ergon. Madrid, 2002.
Libro de conocimientos generales sobre Nutrición tanto en situaciones fisiológicas, como, por ejemplo, en la edad avanzada, como patológicas. También contiene información sobre las alteraciones que tienen lugar para el desarrollo de las patologías o las alteraciones fisiológicas en diversos estadios de la vida, como la gestación, el envejecimiento, etc.

Mataix J, Ochoa JJ, Quiles JL. Olive oil, dietary fat and ageing, a mitochondrial approach. Grasas y aceites 2004; 55: 84-91.
Interesante artículo que muestra un abordaje novedoso del proceso del envejecimiento, consistente en cómo este proceso puede ser modulado mediante la manipulación de la grasa alimentaria.

Morin GB. Telomere control of replicative lifespan. Experimental Gerontology 1997; 32: 375-82.
Este artículo muestra de modo claro los aspectos más relevantes del control que los telómeros ejercen sobre el arresto de la proliferación celular.

Quiles JL, Ochoa JJ, Huertas JR, Mataix J. Aspectos mitocondriales del envejecimiento. Papel del tipo de grasa de la dieta y el estrés oxidativo. Endocrinología y nutrición 2004; 51: 107-20.
Artículo en español que muestra de un modo claro y conciso los aspectos más importantes acerca del papel llevado a cabo por la mitocondria en el proceso de envejecimiento.

13. Enlaces web

- www.nature.com/nature/focus/lifespan
- www.un.org/esa/socdev/ageing/ageraa.htm
- www.o2sa.org/O2SAHomepage/OSandAging.htm
- www.sciencedirect.com/science/journal/05315565
- www.sciencedirect.com/science/journal/00476374
- www.sciencedirect.com/science/journal/08915849

1.35. Sistema inmune y mecanismos de inmunidad innata y adaptativa

Alfonso Ruiz-Bravo López ■ María Jiménez Valera

Capítulo 1.35.

Sistema inmune y mecanismos de inmunidad innata y adaptativa

1. Introducción

2. Inmunidad no específica

2.1. Reconocimiento de estructuras microbianas ubicuas

2.2. Sistemas de moléculas plasmáticas que reconocen estructuras extrañas

2.2.1. Sistema de quininas

2.2.2. Sistema del complemento: vías de activación

2.2.3. Sistema del complemento: vía efectora común y actividades biológicas de los fragmentos generados durante la activación

2.3. Reconocimiento de estructuras microbianas inespecíficas por receptores celulares

2.4. Inflamación y fagocitosis

2.4.1. Reacción inflamatoria

2.4.2. Inflamación aguda

2.4.3. Fagocitosis

2.4.4. Citokinas proinflamatorias y efectos sistémicos de la inflamación aguda

2.4.5. Inflamación crónica

2.5. Citotoxicidad natural

2.6. Interferones

2.6.1. Tipos de interferones

2.6.2. Mecanismos de acción antiviral

2.6.3. Otras actividades biológicas de los interferones

3. Inmunidad específica

3.1. Antígenos

3.1.1. Conceptos de antígeno, epítopo y hapteno

3.1.2. Inmunización, coadyuvantes y BRM

3.2. Linfocitos, sus receptores y otras moléculas de la superficie linfocitaria

3.2.1. Linfocitos B y T

3.2.2. Inmunoglobulinas

3.2.3. Generación de la diversidad de especificidades

3.2.4. Receptor de células B y marcadores de diferenciación del linaje B

3.2.5. Sistema principal de histocompatibilidad

3.2.6. Receptor de células T

3.2.7. Ontogenia de células T, marcadores y subpoblaciones

3.3. El papel crucial de las células Th

3.3.1. Presentación de epítopos a las células Th
3.3.2. Respuestas Th1 y Th2
3.4. Respuesta de anticuerpos
3.4.1. Activación de linfocitos B
3.4.2. Producción de anticuerpos, cambios de clase y maduración de afinidad
3.4.3. Los anticuerpos como moléculas efectoras
3.5. Inmunidad celular
3.5.1. Respuesta de células Th1 y activación de macrófagos
3.5.2. Linfocitos T citotóxicos

4. Resumen

5. Bibliografía

6. Enlaces web

Objetivos

- Explicar las diferencias entre inmunidad innata e inmunidad específica, y clasificar cualquier mecanismo inmunitario en una de ambas categorías.
- Explicar el concepto de PAMP (***P****athogen-****A****ssociated* ***M****olecular* ***P****atterns*).
- Describir las vías de activación y efectora del sistema del complemento.
- Describir el proceso de fagocitosis y evaluar el papel biológico de las reacciones de inflamación.
- Describir la citotoxicidad natural y comprender la estrategia de los receptores de activación y de inhibición de las células NK.
- Describir el reconocimiento de antígenos por linfocitos B y T.
- Comprender la capacidad decisoria de las células T en dos niveles: la distinción entre antígenos exógenos y endógenos por células T $CD4^+$ y T $CD8^+$, y la discriminación entre patógenos extra e intracelulares por células Th2 y Th1.
- Explicar el papel biológico de los antígenos de histocompatibilidad.
- Explicar los aspectos básicos de la respuesta de anticuerpos.
- Explicar los aspectos básicos de la inmunidad celular.

1. Introducción

En la historia evolutiva de los seres vivos, la capacidad de distinguir entre las estructuras propias y las de otros sistemas biológicos aparece tempranamente. Esta capacidad de discriminación entre propio y extraño es la base de los mecanismos inmunitarios que han desarrollado los animales, hasta alcanzar sus mayores niveles de complejidad en aves y mamíferos.

Tal como se conoce hoy, el sistema inmune es realmente complejo: comprende una amplia diversidad de linajes celulares e implica un notable número de moléculas, unas presentes en los líquidos corporales y otras en la superficie de las células. Las células inmunitarias se concentran en el compartimento linfoide, constituido por una serie de órganos de tejido linfoide (timo, bazo, ganglios linfáticos, amígdalas, placas de Peyer, tejido linfoide difuso) conectados a una red de vasos que forman el sistema linfático, conectado a su vez con la circulación sanguínea; pero hay también células inmunitarias que abandonan la circulación y pasan a los diversos tejidos del organismo.

Desde el punto de vista funcional, el sistema inmune opera reconociendo y eliminando estructuras extrañas al organismo. Estas funciones permiten mantener el medio interno libre de la colonización por microorganismos que encontrarían en él un hábitat óptimo (temperatura, humedad, riqueza de nutrientes). Se pueden distinguir dos grandes niveles de reconocimiento de estructuras: el de la inmunidad no específica (también denominada innata), que limita su capacidad de discriminación a distinguir entre las estructuras propias y algunas estructuras extrañas (generalmente, superficies de microorganismos); y el de la inmunidad específica, adquirida o adaptativa, basada en la generación de una enorme diversidad de receptores, cada uno de los cuales reconoce una determinada estructura (epítopo), ya sea propia o extraña, lo que implica a su vez el desarrollo obligado de mecanismos que impidan la autoagresión. El fallo eventual de estos mecanismos reguladores es la causa de las enfermedades autoinmunes.

Aunque la distinción entre inmunidad no específica e inmunidad específica es real, y no una clasificación meramente académica, lo cierto es que existen numerosas conexiones entre ambos tipos de mecanismos, que actúan de forma integrada. Los mecanismos no específicos son mayoritariamente constitutivos, esto es, están listos para actuar, por lo que constituyen las primeras barreras que se oponen a la entrada de un agente patógeno. En cambio, la respuesta inmune específica es un proceso de inducción relativamente lenta, aunque de eficacia mucho mayor. En muchas ocasiones, la inmunidad no específica resulta insuficiente para eliminar al microorganismo infeccioso, pero se opone a su diseminación y proliferación dando

tiempo a la elaboración de una respuesta específica esterilizante (es decir, capaz de eliminar a todos los microorganismos patógenos presentes en los tejidos). La mayor parte de las respuestas específicas generan memoria, es decir, las nuevas respuestas frente a una misma estructura son más rápidas y potentes. Esta propiedad de la inmunidad específica, en la que se basan los procedimientos de vacunación, reduce el papel de la inmunidad innata en el control inmediato de agentes patógenos frente a los que exista una memoria previa.

Cabría preguntarse si un sistema tan complejo (y, por tanto, biológicamente costoso) e, incluso, potencialmente peligroso (como demuestra la existencia de las patologías autoinmunes) es realmente necesario para salvaguardar el medio interno frente a la amenaza de la infección. Hay que tener en cuenta que los microorganismos patógenos han evolucionado bajo la presión selectiva de los mecanismos inmunitarios que se oponen a su persistencia en el medio interno de sus hospedadores, y han ido adquiriendo factores de virulencia y estrategias sofisticadas para escapar del control inmunitario.

Pero, sin necesidad de especulaciones teóricas, la necesidad de poseer un sistema inmune eficaz queda documentada por las situaciones en las que algunas partes del sistema fallan: los déficit inmunitarios o inmunodeficiencias. Se conoce un gran número de diferentes síndromes de inmunodeficiencia, congénitos y adquiridos, en los cuales la vida del enfermo se ve gravemente amenazada por la incidencia de infecciones, incluso por patógenos oportunistas (que no causarían enfermedad en un individuo inmunocompetente).

El sistema inmune tiene conexiones importantes con otros sistemas, como el nervioso y el endocrino, y, también como ellos, es muy sensible al estado nutricional del individuo. Por otra parte, hay evidencias convincentes de que determinados alimentos funcionales como los probióticos (y, a través de ellos, los prebióticos) pueden ejercer efectos modificadores sobre mecanismos inmunitarios (inmunomodulación). Por todo ello, un estudio sistemático de la nutrición no debe olvidar las implicaciones inmunitarias.

Este Capítulo presenta una visión básica del sistema inmune, que facilite la comprensión de otras partes de este tratado que se apoyan en conceptos inmunológicos.

2. Inmunidad no específica

2.1. Reconocimiento de estructuras microbianas ubicuas

Para ser eficaces como primera línea defensiva frente a las infecciones, los mecanismos de la inmunidad innata deben ser capaces de reconocer estructuras compartidas por grandes grupos de microorganismos. Recientemente, se ha acuñado la expresión ***P**athogen-**A**ssociated **M**olecular **P**atterns* (PAMP), para designar estructuras de la superficie microbiana, comunes a muchos microorganismos. Ejemplos de PAMP son el peptidoglicano, que forma la capa de mureína presente en la pared celular de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas; el lipopolisacárido (LPS) de la pared de bacterias Gram-negativas; las lipoproteínas, también de la pared de bacterias Gram-negativas; los ácidos lipoteicoicos, de la pared de bacterias Gram-positivas; los lipo-arabino-mananos, de la pared de micobacterias; la flagelina (proteína constitutiva de los flagelos bacterianos); el zimosán presente en la pared de levaduras, etc.

Los receptores que reconocen PAMP se conocen con las siglas PRR (***P**attern **R**ecognition **R**eceptors*). Hay PRR solubles, que son proteínas plasmáticas; otros se ubican en la superficie de células implicadas en la inmunidad, como monocitos y macrófagos, células dendríticas, mastocitos e incluso algunas células epiteliales (células de la mucosa intestinal).

2.2. Sistemas de moléculas plasmáticas que reconocen estructuras extrañas

Se trata de conjuntos de proteínas presentes en el plasma de forma constitutiva. En su estado nativo, carecen de actividad biológica. La presencia de determinados PAMP inicia la activación de estos sistemas, que es secuencial, esto es, sigue un orden: un componente del sistema se activa y actúa sobre el siguiente en la secuencia, activándolo a su vez, y así sucesivamente (en su estado nativo, son proenzimas que al activarse adquieren capacidad de actuar enzimáticamente sobre su sustrato, que es el componente siguiente). Como cada componente activado actúa enzimáticamente, en cada paso de

la secuencia hay un efecto amplificador, ya que una sola molécula de enzima cataliza la conversión de un gran número de moléculas de sustrato. Frecuentemente, la proteína que se activa se rompe en dos fragmentos, cada uno de los cuales puede exhibir actividades biológicas adicionales, relacionadas con la inducción de los dos mecanismos característicos de las reacciones inflamatorias: la extravasación de plasma y la llegada de células inflamatorias.

2.2.1. Sistema de quininas

Consta de tres componentes: el factor Hageman o HF (factor XII del sistema de coagulación de la sangre), el kininógeno de alto peso molecular (HMWK: ***H**igh **M**olecular **W**eight **K**ininogen*) y la prekalikreína.

El reconocimiento de estructuras extrañas corre a cargo del HF, que se activa en contacto con polianiones, frecuentes en la superficie de algunos microorganismos (como el LPS presente en la pared celular de las bacterias Gram-negativas). La secuencia de activación del sistema es la siguiente: el HF activado forma un complejo con el HMWK, que actúa como cofactor; este complejo actúa sobre la prekalikreína, convirtiéndola en kalikreína; a su vez, la kalikreína actúa sobre el HMWK, generando bradiquinina.

Este sistema sencillo es suficiente para inducir una reacción inflamatoria: tanto el HF activado como la bradiquinina son mediadores vasoactivos, que actúan sobre el endotelio vascular incrementando su permeabilidad y facilitando, por tanto, la extravasación de macromoléculas y, consiguientemente, de plasma; por su parte, la kalikreína actúa también sobre un componente del sistema del complemento, denominado C5, generando el fragmento C5a, que es quimiotácticamente atractivo para los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos.

2.2.2. Sistema del complemento: vías de activación

El complemento es un conjunto de una veintena de proteínas plasmáticas, 14 de las cuales se activan según varias secuencias que confluyen en una vía final común, generando mediadores de inflamación y un complejo capaz de destruir membranas biológicas, denominado complejo de ataque a membrana o MAC (***M**embrane **A**ttack **C**omplex*); las demás son inhibidores que regulan el proceso de activación, lo cual reviste gran importancia, dado el potencial agresivo de este sistema para los propios tejidos **(Tabla 1)**. El complemento pertenece a la inmunidad no específica, pero una de sus posibles secuencias de activación, denominada vía clásica, suele iniciarse en presencia de inmunocomplejos (complejos formados por antígenos unidos a sus anticuerpos específicos), lo que supone la existencia previa de una respuesta de inmunidad específica; adicionalmente, la vía clásica también puede iniciarse en ausencia de inmunidad específica, por acción de una proteína de reconocimiento, denominada proteína C reactiva o CRP (***C R**eactive **P**rotein*). Las otras vías de activación (alternativa y de lectinas) operan en ausencia de inmunidad específica.

En la vía alternativa intervienen, secuencialmente, los factores C3, B, D y P **(Figura 1)**. Esta vía se activa espontáneamente, porque C3 tiene un enlace interno lábil, que al romperse genera C3i, la cual captura al factor B. Cuando este factor está formando el complejo bimolecular C3iB, se vuelve susceptible a la hidrólisis catalizada por el factor D, rompiéndose en dos fragmentos, Ba (que se pierde) y Bb. El complejo C3iBb tiene la capacidad de catalizar la rotura de C3 en C3a y C3b, por lo que se le denomina convertasa de C3. Parte del C3b generado se comporta como C3i, capturando más factor B para, finalmente, originar más convertasa de C3; pero C3b también puede unirse a esta convertasa, formando el complejo trimolecular C3bBb3b, que, a su vez, es una convertasa de C5, puesto que cataliza la rotura de este componente en C5a y C5b, con lo que se entra en la vía efectora común. Varios de los fragmentos generados tienen actividades biológicas relacionadas con la inflamación, como se verá en el apartado 2.2.3. El papel del factor P (properdina) es estabilizar las convertasas generadas por esta vía.

Es obvio que la activación espontánea de la vía alternativa debe estar bajo control, para evitar la inducción inmotivada de inflamación, con el consiguiente daño tisular. En efecto, apenas se ha formado, la convertasa C3bBb es escindida, por la proteína plasmática H, en sus dos componentes; H actúa como cofactor para que el factor I inactive a C3b. Si

Tabla 1. SISTEMA DEL COMPLEMENTO

Componente	Función
C1q	- Reconocimiento, vía clásica
C1r	- Activación, vía clásica
C1s	- Activación, vía clásica
C2	- Activación, vía clásica, y generación de C2a (forma parte de convertasas de C3 y C5)
C3	- Activación, vías clásica y alternativa, y generación de C3a (anafilotoxina, agregación de plaquetas) y C3b (opsonina y parte de convertasas de C3 y C5)
C4	- Activación, vía clásica, y generación de C4a (anafilotoxina) y C4b (forma parte de convertasas de C3 y C5)
C5	- Vía efectora común y generación de C5a (anafilotoxina, atracción quimiotáctica de neutrófilos) y C5b (parte del MAC)
C6	- Vía efectora común (parte del MAC)
C7	- Vía efectora común (parte del MAC)
C8	- Vía efectora común (parte del MAC)
C9	- Vía efectora común (parte del MAC)
B	- Activación, vía alternativa, y generación de Bb (forma parte de una convertasa de C3)
D	- Activación, vía alternativa
P (properdina)	- Estabilización de C3bBb (convertasa de C3)
C1-INH	- Inhibición de C1
C4bp	- Cofactor en la inactivación de C4b por el factor I
H	- Cofactor en la inactivación de C3b por el factor I
I	- Inactivador de C4b y C3b
S	- Inactivador del MAC (C5b6789)
Carboxipeptidasa	- Inhibición de las anafilotoxinas C3a, C4a y C5a

Sólo se incluyen proteínas plasmáticas. Otras proteínas presentes en la membrana celular, como la CD46 (MCP, **M***embrane* **C***ofactor* **P***rotein) y CD55 (DAF,* **D***ecay* **A***ccelerating* **F***actor), actúan de cofactores en la inactivación de C3b y C4b por el factor I en la superficie de las células del organismo. Tampoco se han incluido la proteína C reactiva (CRP) ni la proteína de unión a manosa (MBP), que son proteínas de reconocimiento capaces de iniciar la activación del complemento por las vías clásica y de lectinas, respectivamente.*

C3bBb llega a depositarse en la superficie de células del organismo, hay en la membrana citoplásmica moléculas, como DAF (***D****ecay* ***A****ccelerating* ***F****actor*) y MCP (***M****embrane* ***C****ofactor* ***P****rotein*), que, asimismo, escinden el complejo y facilitan la inactivación de C3b por I. Pero diversas estructuras, frecuentes en la superficie de los microorganismos, tienen la capacidad de unir la convertasa C3bBb protegiéndola de su inactivación por el factor I; por ello, se denominan superficies activantes, ya que sobre ellas tiene lugar la activación de la vía alternativa **(Figura 1)**. Por tanto, las superficies activantes se comportan como PAMP y el complejo C3bBb actúa como un PRR soluble; en consecuencia, la vía alternativa del complemento tiene capacidad para discriminar entre superficies propias (que la inactivan) y superficies microbianas (sobre las que se activa, generando mediadores de inflamación y conectando con la vía efectora común).

La secuencia de activación de la vía clásica es C1, C4, C2 y C3 **(Figura 2)**. C1 es un complejo constituido por una molécula de C1q, dos de C1r y dos de C1s. La proteína de reconocimiento es C1q, que se activa en presencia de determinados inmunocomplejos, pero también, en ausencia de inmunidad específica, por acción de CRP. Ésta es una proteína de fase aguda, esto es, la producen los hepatocitos en el curso de reacciones inflamatorias (*ver apartado 2.4.4*). CRP es un PRR soluble que se une a fosfatidilcolina, presente en la pared celular de numerosos microorganismos (bacterias, levaduras), lo que dispara la activación de C1q, que a su vez activa a C1r y éste a C1s. C1s activado cataliza la rotura de C4 en C4a y C4b. C4b tiene tendencia a depositarse en

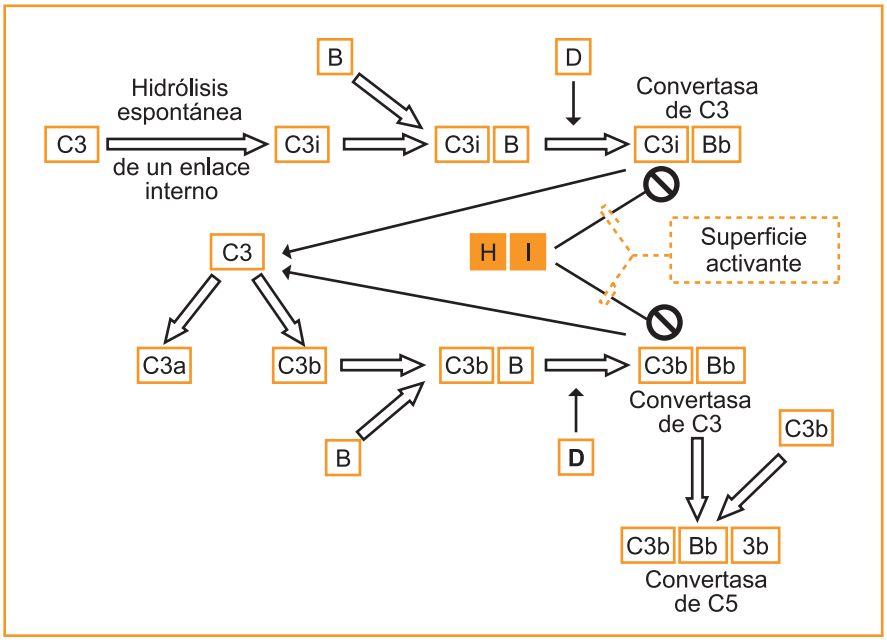


Figura 1. *Vía alternativa de activación del complemento.*

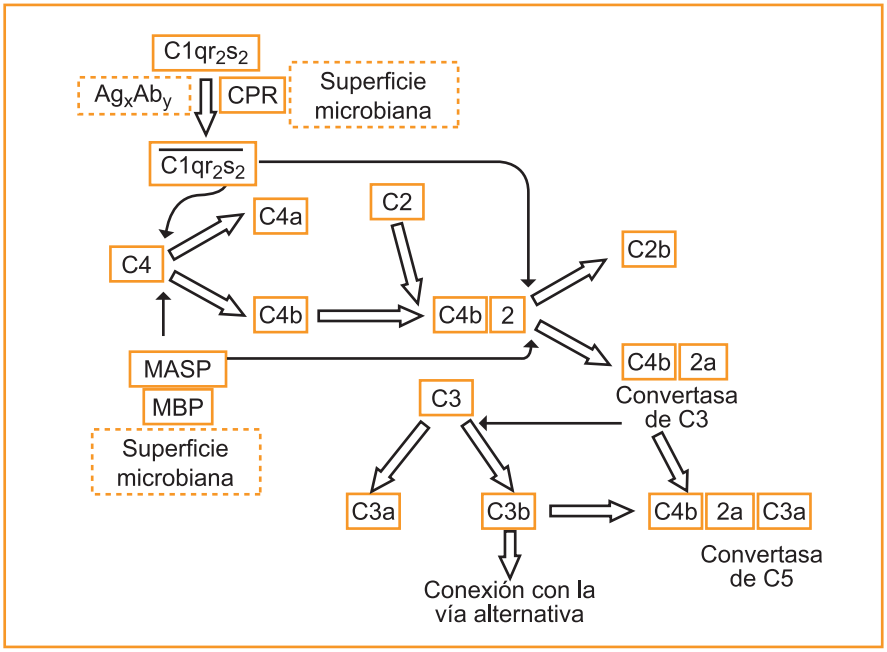


Figura 2. *Activación del complemento por las vías clásica y de lectinas (la barra horizontal sobre C1qrs denota activación). MASP:* **M**BL-**A**ssociated **S**erine **P**roteases.

superficies celulares, formando enlaces con grupos amino e hidroxilo presentes en ellas, y, desde allí, atrapa a C2. En estas condiciones, C1s rompe C2, generando C2a, que permanece unido a C4b en la superficie celular, y C2b. El complejo bimolecular C4b2a es una convertasa de C3, que cataliza la conversión de C3 en C3a y C3b. C3b también se deposita en superficies celulares. Parte del C3b formado originará el complejo trimolecular C4b2a3b, que es la convertasa de C5 de la vía clásica. A partir de aquí, se entra en la vía efectora común.

Es importante reseñar que la vía clásica conecta con la alternativa, ya que el C3b generado por acción de la convertasa de C3 de la vía clásica puede atrapar al factor B, formando C3bB; esto propicia la acción catalítica del factor D, generando C3bBb, lo que significa que, en el paso siguiente, se producirá también C3bBb3b; por tanto, estas dos convertasas de C3 y C5 aparecen en el curso de la activación por cualquiera de ambas vías.

En la vía de activación por lectinas **(Figura 2)**, el reconocimiento corre a cargo de la proteína de unión a manosa o MBP (***M**annose **B**inding **P**rotein*); esta proteína es una lectina (las lectinas son glicoproteínas que reconocen glúcidos), por lo que también se la conoce como MBL (***M**annose **B**inding **L**ectin*). MBL es un PRR que reconoce azúcares terminales no reductores, como manosa, N-acetilglucosamina y fucosa, frecuentes en el glicocálix de microorganismos. MBL tiene semejanzas estructurales con C1q, y, cuando se une a superficies microbianas, se asocia con unas serinproteasas denominadas MASP (***M**BL-**A**ssociated **S**erine **P**roteases*) que cumplen funciones similares a las de C1r y C1s, iniciando la activación a nivel de

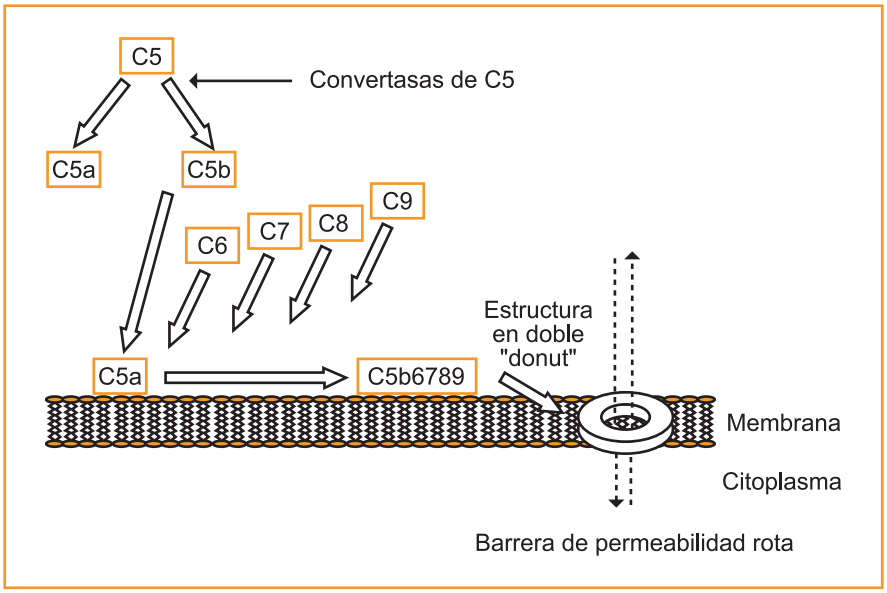


Figura 3. *Vía efectora común del complemento y citólisis por inserción del MAC (complejo Cib6789) en la membrana citoplasmatica.*

C4 y C2, para seguir a partir de ahí la secuencia que se acaba de ver para la vía clásica.

2.2.3. Sistema del complemento: vía efectora común y actividades biológicas de los fragmentos generados durante la activación

La vía efectora común **(Figura 3)** arranca de la rotura de C5 en C5a y C5b, catalizada por cualquiera de las dos convertasas de C5 (C4b2a3b o C3bBb3b). C5b se deposita en superficies celulares, y, a continuación, se depositan secuencialmente los restantes componentes, C6, C7, C8 y C9. El complejo C5b6789, conocido con las siglas MAC ya mencionadas, tiene la propiedad de insertarse a través de bicapas lipídicas, formando un poro funcional. Por tanto, cuando se fije en membranas biológicas, como la membrana citoplásmica o la membrana externa de la pared celular de bacterias Gram-negativas, destruye la barrera de permeabilidad, lo que tiene como consecuencia la lisis de la célula afectada. Además de bacterias y virus con envoltura, las propias células del tejido donde ocurre la activación del complemento pueden ser destruidas por el MAC. Esto es beneficioso en el caso de células infectadas por patógenos intracelulares (como los virus), pero también pueden lisarse células sanas: la activación del complemento es un proceso potencialmente autoagresivo, pero el daño tisular se limita por la existencia de los factores inhibidores reseñados en la **Tabla I**.

Como se ha indicado antes, varios de los fragmentos que aparecen en el curso de estas vías tienen actividades biológicas. C3a, C4a y C5a son anafilotoxinas **(Figura 4)**. Este término define la propiedad de estas moléculas de unirse a receptores presentes en la superficie de unas células denominadas mastocitos, presentes en los epitelios de la superficie corporal (piel y mucosas). El citoplasma de los mastocitos es rico en gránulos que contienen aminas vasoactivas (en la especie humana, histamina). Cuando las anafilotoxinas se unen a sus receptores, se genera una señal de activación celular, en respuesta a la cual ocurren varios acontecimientos: los gránulos migran hacia la membrana citoplásmica, se fusionan con ella y vierten al exterior la histamina que contienen; además, la célula pone en marcha dos vías metabólicas que parten del ácido araquidónico, la vía de la lipooxigenasa, que genera leucotrienos, y la de la ciclooxigenasa, que produce prostaglandinas. Al igual que la histamina, los leucotrienos y prostaglandinas son mediadores de inflamación, que incrementan la permeabilidad vascular determinando extravasación de plasma, además de tener otros variados efectos biológicos.

Además de ser anafilotoxinas, C3a y C5a causan agregación plaquetaria, y C5a tiene una fuerte actividad quimiotáctica sobre los neutrófilos y, en menor medida, sobre los monocitos. C2b es convertida por una proteína plasmática (la plasmina) en C2b-quinina, que actúa directamente sobre el endotelio vascular, causando contracción de las células endoteliales y extravasación de plasma.

De las fracciones que se unen a las superficies activantes (superficies microbianas), C3b tiene especial interés. Diversos tipos de leucocitos tienen receptores para C3b o para sus derivados inactivados. Estos receptores se conocen con las siglas

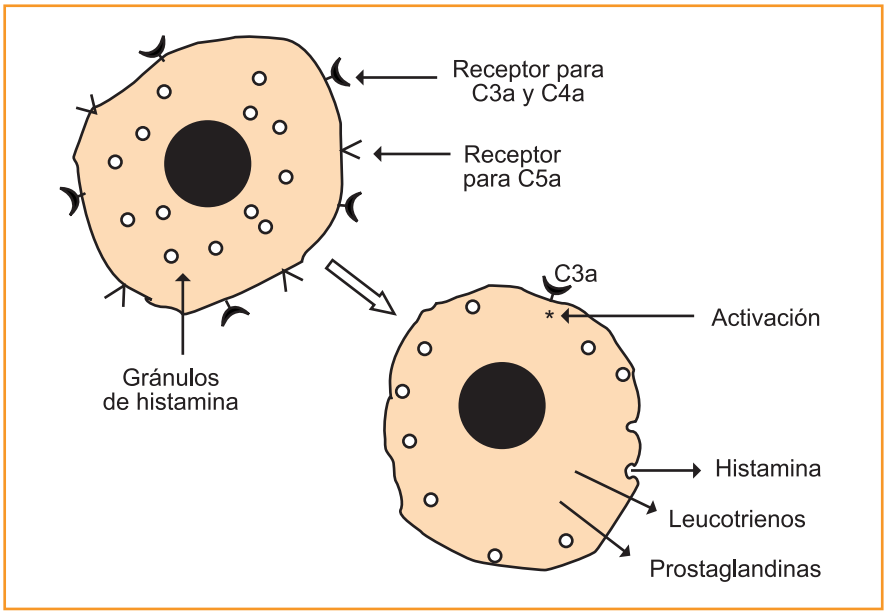


Figura 4. *Activación y desgranulación de mastocitos por la acción de las anafilotoxinas C3a, C4a y C5a.*

CR (***C**omplement **R**eceptor*) seguidas de un número, pero también tienen otra nomenclatura, dentro del sistema CD (***C**lusters of **D**ifferentiation*) que se utiliza para designar un gran número de proteínas de la superficie leucocitaria, cuya presencia permite diferenciar unos leucocitos de otros. A continuación se examinarán las funciones de los principales receptores para C3b y sus derivados:

• CR1, o CD35, es un receptor de C3b presente en fagocitos (neutrófilos y monocitos/macrófagos); los microorganismos y otras partículas recubiertas de C3b se unen fácilmente a la superficie de los fagocitos, por la afinidad entre C3b y CR1, y esto facilita su posterior ingestión por fagocitosis. Esta facilitación de la fagocitosis se denomina opsonización; C3b es, por tanto, una opsonina inespecífica. También los hematíes poseen CR1, lo que les permite unir inmunocomplejos solubles que hayan activado el complemento y en los que se haya fijado C3b; al circular por los vasos de órganos como el bazo o el hígado, que poseen sus propias células fagocíticas, estos inmunocomplejos son endocitados, lo que constituye un mecanismo de depuración (eliminación de inmunocomplejos) de la sangre.

• CR2, o CD21, es receptor para productos de degradación de C3b (como C3d) y se encuentra en la superficie de los linfocitos B, estando implicado en su activación (*ver apartado 3.4.1*).

• CR3, o CD11b/CD18, y CR4 o CD11c/CD18, presentes en los fagocitos, son receptores para iC3b (un producto de inactivación de C3b), e intervienen también en la opsonización.

Resumiendo, en cuanto a las actividades biológicas derivadas de la activación del complemento, hay que destacar la inducción de los dos componentes esenciales de la reacción inflamatoria, que son la extravasación de plasma y la infiltración del tejido inflamado por leucocitos atraídos quimiotácticamente; la lisis de células infectadas o alteradas y de ciertas bacterias y virus, y la facilitación de la eliminación de partículas extrañas, microorganismos y restos celulares mediante opsonización.

2.3. Reconocimiento de estructuras microbianas inespecíficas por receptores celulares

Diversos linajes celulares que participan en procesos de inflamación y fagocitosis poseen PRR en su superficie. La unión de PAMP a PRR genera señales de activación celular, que se traducen en diversos efectos, entre otros la síntesis y secreción de citokinas. Las citokinas son proteínas que actúan como moléculas de comunicación entre células. La mayor parte de las citokinas producidas por leucocitos se denominan interleukinas y se representan por las siglas IL seguidas de un número, pero otras, como los interferones (IFN) o lo factores estimuladores de colonias (CSF), conservan denominaciones peculiares (*ver Capítulo 1.4*).

Los macrófagos son células especialmente ricas en PRR. Uno de éstos es el receptor para manosa o MMR (***M**acrophage **M**annose **R**eceptor*), actualmente designado como CD206, que se une a ligandos con manosa comunes en la superficie de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y de hongos patógenos

genos. Se supone que el MMR facilita la fagocitosis de estos microorganismos (*ver apartado 2.4.3*).

Especial interés reviste una familia de PRR conocida como receptores tipo Toll o TLR (***T**oll-**L**ike **R**eceptors*), por su homología y relaciones filogenéticas con la proteína Toll de la mosca del vinagre (*Drosophila*). Esta proteína es necesaria en la embriogénesis de *Drosophila* y, además, juega un papel en la resistencia de las moscas frente a infecciones bacterianas y fúngicas.

Hasta el presente, se ha descrito una decena de TLR en mamíferos (de TLR1 a TLR10). Uno de los mejor conocidos es TLR4, presente en macrófagos, e implicado en el reconocimiento del LPS de bacterias Gram-negativas. Este proceso es importante porque es una causa común de reacción inflamatoria en infecciones por este tipo de bacterias, y, en casos de septicemia, sería uno de los mecanismos responsables del choque séptico (un estado de inflamación generalizada), cuyo desenlace puede ser fatal.

El proceso de reconocimiento de LPS **(Figura 5)** se inicia cuando algunas de estas moléculas, desprendidas de la superficie bacteriana, se unen a una proteína plasmática denominada LBP (***L**PS **B**inding **P**rotein*). El complejo LBP-LPS es reconocido por un receptor de la superficie del macrófago, denominado CD14. Finalmente, el complejo LBP-LPS-CD14 interacciona con TLR4, lo que dispara la correspondiente señal de activación celular. Los macrófagos estimulados a través de LTR4 producen diversas citokinas proinflamatorias, radicales oxidantes derivados del óxido nítrico y péptidos antimicrobianos.

2.4. Inflamación y fagocitosis

2.4.1. Reacción inflamatoria

Se ha visto que la presencia de estructuras extrañas en los tejidos pone en marcha mecanismos de reconocimiento, humorales (quininas, complemento) o celulares (células portadoras de PRR) que inician una reacción inflamatoria. La función defensiva de la inflamación consiste en focalizar elementos defensivos en el tejido donde ha aparecido un agente extraño, potencialmente peligroso para el organismo. Los elementos defensivos son moléculas y células que proceden del compartimento vascular, y que son capaces de matar y eliminar microorganismos. Los signos aparentes de la inflamación son consecuencia de las alteraciones vasculares que propician la extravasación de plasma y la salida de leucocitos, y clásicamente se han descrito como tumor (la hinchazón o edema debido al plasma extravasado), rubor (enrojecimiento por la vasodilatación y el incremento de flujo sanguíneo en el tejido inflamado), calor (incremento local de temperatura, por las mismas causas) y dolor (consecuencia de la excitación de terminaciones nerviosas por la presión causada por el edema y por la liberación de mediadores químicos).

Adicionalmente a la infección, otras causas pueden iniciar un proceso inflamatorio: un trauma, la muerte de células por necrosis (por el contrario, la apoptosis no induce inflamación, lo que concuerda con su carácter de proceso fisiológico), y, también, respuestas de inmunidad específica que utilizan la inducción de inflamación como mecanismo efector (p. ej., la activación de la vía clásica del complemento como consecuencia de la formación de inmunocomplejos).

Pero la acumulación de células defensivas, esto es, con un potencial agresivo, capaces de secretar radicales oxidantes, y la formación del MAC como consecuencia de la activación del complemento por cualquiera de las vías, causa también daño a las células del propio tejido. Es importante tener presente que las reacciones inflamatorias, además de su aspecto defensivo, tienen también una contrapartida negativa, ya que inevitablemente causan daño tisular. Se puede considerar que, en muchas ocasiones, merece la pena pagar este precio con tal de frenar un proceso infeccioso, pero, en otras ocasiones, las consecuencias de la inflamación superan la amenaza de la infección por un patógeno de escasa virulencia, y, con alguna frecuencia, tales consecuencias forman parte, a veces principal, de la patología infecciosa.

2.4.2. Inflamación aguda

La reacción inflamatoria sigue una secuencia que se inicia con vasodilatación, seguida de extravasación de plasma e infiltración del tejido con células inflamatorias.

La dilatación de los capilares y arteriolas responsables de la microcirculación del tejido inflamado se debe principalmente a la acción de mediadores liberados por los mastocitos: la histamina es responsable de la vasodilatación precoz, mientras que

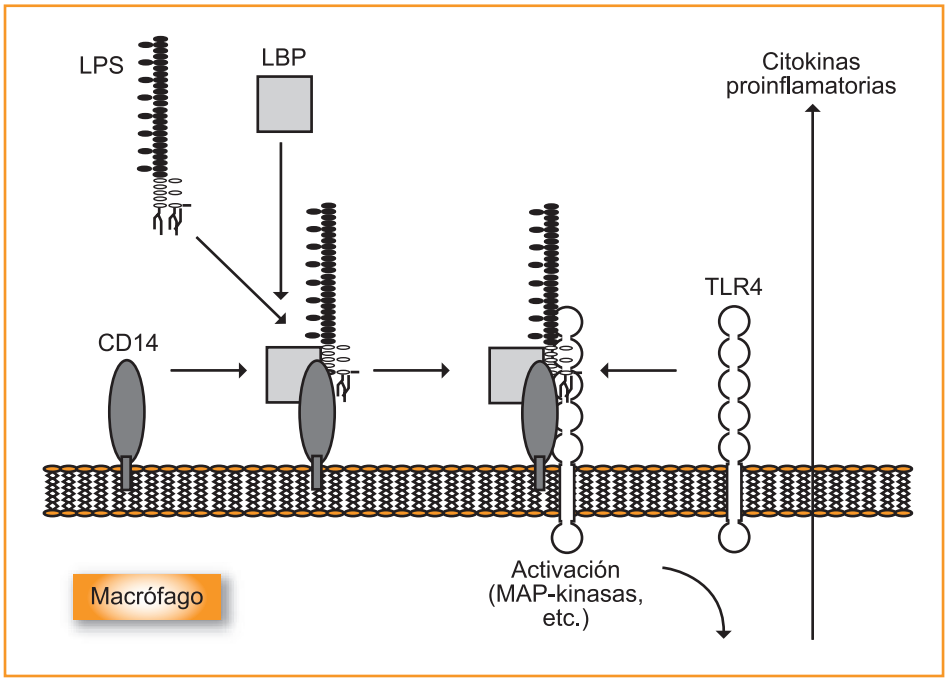


Figura 5. *Estimulación de macrófagos por LPS.*

las prostaglandinas ejercen un efecto vasodilatador más prolongado. Las anafilotoxinas C3a y C5a, además de desencadenar la desgranulación de los mastocitos, también pueden causar vasodilatación, así como la bradiquinina.

El incremento de la permeabilidad vascular es consecuencia de la contracción de las células endoteliales, inducida por mediadores de mastocitos (histamina, prostaglandinas, leucotrienos), por la bradiquinina y por algunas citokinas (como el factor linfocitario de permeabilidad).

La infiltración del tejido por leucocitos inflamatorios requiere la producción de mediadores quimioatrayentes en el foco de inflamación y un intercambio de información entre las células endoteliales y los leucocitos circulantes. En la inflamación aguda debida a mecanismos de la inmunidad innata, las primeras células en llegar al foco inflamatorio son los neutrófilos, a los que siguen los leucocitos mononucleares (macrófagos y linfocitos), que llegan a ser dominantes en el caso de que la inflamación se cronifique.

Diversas moléculas actúan como mediadores quimiotácticamente atractivos para leucocitos: los mediadores exógenos son de origen microbiano, como el LPS o los oligopéptidos iniciados con N-formil-metionina que las bacterias excretan como subproductos de la síntesis de proteínas; los endógenos pueden ser fragmentos procedentes de la activación de kininas o del complemento (es el caso de la kalikreína y de C5a, respectivamente), o mediadores producidos por mastocitos (leucotrieno B_4), por células endoteliales o por las propias células inflamatorias (citokinas denominadas quimiokinas).

Los mediadores quimioatrayentes y algunas otras moléculas liberadas en el foco inflamatorio (histamina, citokinas proinflamatorias) actúan sobre las células endoteliales, activándolas. En respuesta, estas células sintetizan nuevas moléculas de superficie, como la selectina P. Cuando los neutrófilos circulantes pasan por un vaso cuyo endotelio se ha activado y expresa esta selectina, se pegan a las paredes del vaso, ya que en la superficie de los neutrófilos existe una L-selectina que es el ligando de la P-selectina endotelial. La interacción entre ambas selectinas no inmoviliza al neutrófilo; éste se desplaza rodando sobre la superficie endotelial, pero sin separarse de ella. En estas condiciones, el neutrófilo experimenta a su vez el estímulo de los mediadores quimiotácticos acumulados en las células endoteliales o, incluso, producidos por ellas, y responde incrementando la expresión de β_2-integrinas (los complejos CD11a/CD18 y CD11b/CD18), que interaccionan con otras moléculas de adhesión (ICAM-1 e ICAM-2) de la superficie endotelial activada. El resultado de esta multiplicidad de interacciones fuertes entre ambas superficies celulares es que el neutrófilo "rodante" se detiene, estableciendo uniones adicionales (entre sus β_2-integrinas y la E-selectina del endotelio activado) que refuerzan su adhesión a la pared vascular. Finalmente, el neutrófilo se abre paso entre dos células endoteliales contiguas (diapédesis) y abandona el compartimento vascular,

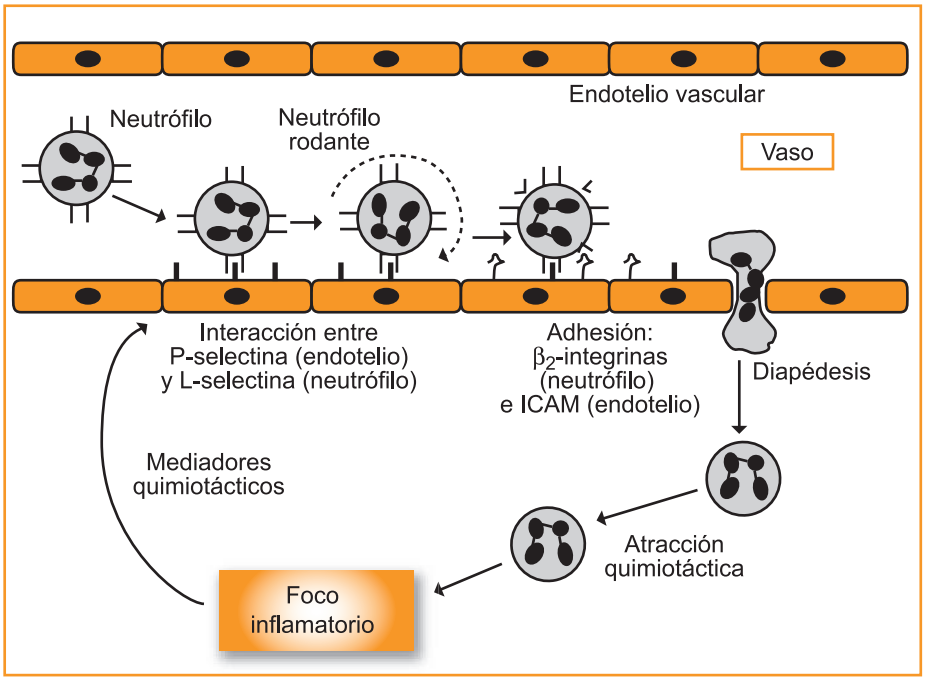


Figura 6. *Infiltración del tejido inflamado por neutrófilos atraídos por mediadores quimiotácticos.*

pasando al tejido en el cual se moverá a favor del gradiente de concentración de mediadores quimiotácticos, que le conducirá al foco inflamatorio. El proceso se ilustra en la **Figura 6**.

2.4.3. Fagocitosis

Las primeras células que llegan al foco inflamatorio, los neutrófilos, están especializadas en eliminar partículas extrañas mediante fagocitosis. Asimismo, entre las células mononucleares que infiltran posteriormente el tejido, figuran los macrófagos, que proceden por maduración de los monocitos circulantes, y que son también especialistas en fagocitosis.

La fagocitosis es un proceso de endocitosis o ingestión de partículas en el que se distinguen varias fases **(Figura 7)**: unión de la partícula a la membrana del fagocito; ingestión de la partícula por engolfamiento, para formar la vacuola fagocítica o fagosoma; activación de mecanismos microbicidas y fusión de la membrana del fagosoma con las membranas de los gránulos lisosomiales (presentes en el citoplasma del fagocito), para formar el fagolisosoma o fagosoma secundario o maduro; y degradación del material fagocitado. A continuación, se examinan dichas etapas:

La unión de microorganismos a la superficie de los fagocitos puede ocurrir directamente, a través de la unión de receptores celulares (PRR) a sus correspondientes ligandos microbianos (PAMP). Sólo algunos PRR, de los diversos que pueden encontrarse en la superficie de los fagocitos, participan en la fagocitosis: entre los mejor conocidos, se puede citar el receptor de manosa (CD206), ya mencionado; el CD14 (receptor de LPS), y la dectina-1, receptor de β-glicanos presentes en la superficie de levaduras.

Otros receptores de fagocitosis actúan indirectamente, uniendo proteínas plasmáticas que se han depositado en la superficie microbiana (opsonización). Entre las opsoninas inespecíficas, figuran la fibronectina y vitronectina; las partículas recubiertas por ellas se unen a diversas integrinas de la superficie del fagocito, como son CD49d/CD29 (integrina $\alpha_4\beta_1$), CD49e/CD29 ($\alpha_5\beta_1$) o CD51/CD61 ($\alpha_V\beta_3$). También C3b, procedente de la activación del complemento, y su derivado inactivo iC3b, son opsoninas inespecíficas: las partículas recubiertas de C3b se unen a CR1; y recubiertas de iC3b, lo hacen a CR3 y CR4.

Los anticuerpos de las clases IgG e IgA (*ver apartado 3.2.2*) pueden actuar como opsoninas específicas: estas moléculas se unen, por su parte específica, a los antígenos presentes en la superficie de microorganismos, y por la parte inespecífica (denominada Fc), a receptores en la superficie de los fagocitos (receptores para Fc o FcR). Se conocen varios tipos de FcR, tres de ellos para IgG, denominados FcγRI o CD64, FcγRIIA o CD32 y FcγRIII o CD 16; y uno para IgA, el FcαRI o CD89. Ésta es una importante conexión entre ambos tipos de inmunidad: la eficacia de la fagocitosis, que es un mecanismo de inmunidad innata, se ve notablemente incrementada por

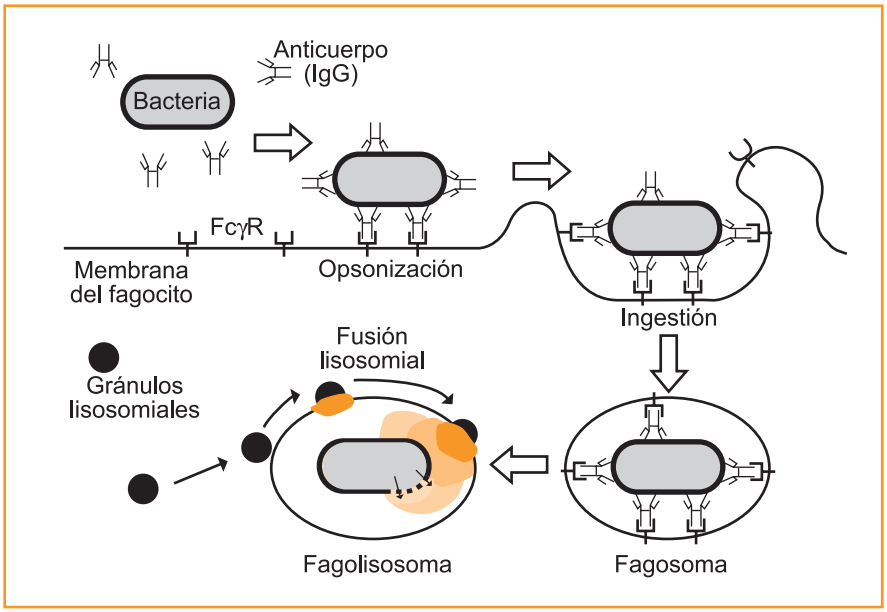


Figura 7. *Fagocitosis.*

la participación de los anticuerpos, producidos en una respuesta inmune específica.

El internamiento de la partícula para formar el fagosoma es un proceso complejo, que implica a un gran número de moléculas (proteínas que unen actina, canales de iones, kinasas y lipasas). La partícula a fagocitar se rodea de extensiones citoplásmicas (pseudópodos) que finalmente se fusionan formando una vacuola fagocítica. La naturaleza de los receptores de fagocitosis implicados en el proceso tiene influencia en el mecanismo de internamiento; por ejemplo, en la fagocitosis a través de FcγR participan tirosina kinasas, pero en la mediada por CR no, aunque en este último caso se requieren estímulos adicionales (citokinas proinflamatorias o unión del fagocito a la matriz extracelular).

Los mecanismos microbicidas intracelulares pueden agruparse en dependientes de oxígeno e independientes de oxígeno. Los mecanismos dependientes de oxígeno se generan a partir de un drástico incremento en el ritmo respiratorio del fagocito e implican la activación de la enzima NADPH oxidasa, cuyas subunidades, normalmente distribuidas entre la membrana y el citosol, se ensamblan en la membrana del fagosoma. La activación de la NADPH oxidasa no ocurre siempre, sino que depende de los receptores implicados en la fagocitosis; la mayoría de los FcR, que poseen secuencias intracitoplásmicas capaces de activar tirosina kinasas (ITAM: *Immunoreceptor* ***T****yrosine-based* ***A****ctivation* ***M****otifs*), inducen la activación de la enzima; pero los CR no, al menos en los macrófagos. La NADPH oxidasa cataliza la formación de anión superóxido (O_2^-), que pasa al interior del fagosoma, donde genera oxidantes microbicidas como el peróxido de hidrógeno, el oxígeno singlete y, en los neutrófilos (que poseen mieloperoxidasa), ácido hipocloroso.

Otro mecanismo microbicida conectado con el incremento respiratorio es la producción de radicales de nitrógeno reactivo. La enzima clave es una sintetasa inducible de óxido nítrico (iNOS: ***i****nducible* ***N****itric* ***O****xide* ***S****ynthase*). Esta enzima es inducida por ciertos PAMP a través de TLR; citokinas como el factor necrosante de tumores o TNF (***T****umor* ***N****ecrosis* ***F****actor*), IL-1 e interferón gamma (IFN-γ) ejercen acciones sinérgicas con los estímulos inductores de iNOS. El óxido nítrico generado reacciona con el anión superóxido para formar peroxinitrito, con potente acción microbicida.

Los gránulos lisosomiales del citoplasma de los fagocitos contienen moléculas microbicidas independientes del oxígeno. La lisozima es una muramidasa, que destruye la mureína de la pared celular bacteriana. Las defensinas constituyen una familia de péptidos catiónicos que tienen en común una secuencia de seis cisteínas con tres puentes disulfuro. Las defensinas están presentes en los gránulos azurófilos de neutrófilos y, en menor extensión, en los de macrófagos, y la fusión lisosomial los vierte en el fagolisosoma. Su acción microbicida, de amplio espectro (hongos, bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, virus con envoltura) se basa en su capacidad para insertarse en bicapas lipídicas, permeabilizándolas. Las catelicidinas son precursores de péptidos antimicrobianos, que contienen un dominio N-terminal conservado, de un centenar de aminoácidos, denominado catelina, y una parte C-terminal de tamaño variable (entre 12 y 80 aminoácidos). Se encuentran en los neutrófilos, en gránulos no azurófilos que secretan su contenido al medio

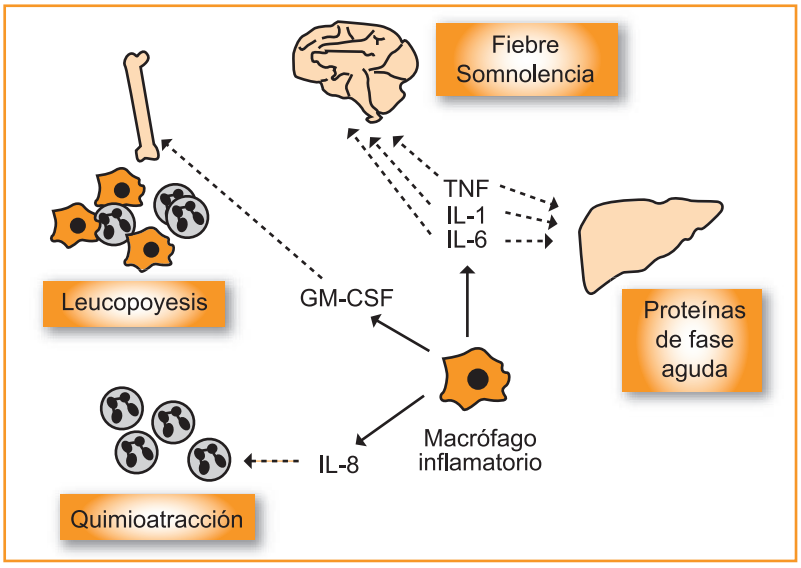


Figura 8. *Efectos sistémicos de las citokinas proinflamatorias. GM-CSF:* **G**ranulocyte **M**acrophage-**C**olony **S**timulating **F**actor.

(desgranulación). La mayoría de las catelicidinas experimentan una rotura proteolítica cuando son secretadas, liberando el péptido antimicrobiano. En el fagolisosoma también se liberan otras proteínas antimicrobianas, como BPI (***B**actericidal **P**ermeability-**I**nducing Protein*), hidrolasas ácidas, etc.

Adicionalmente a los mecanismos reseñados, el pH ácido de los fagosomas y la ausencia de hierro contribuyen asimismo a la muerte de muchos de los microorganismos fagocitados.

2.4.4. Citokinas proinflamatorias y efectos sistémicos de la inflamación aguda

Los fagocitos que infiltran un tejido inflamado son capaces de producir citokinas que contribuyan a los mecanismos defensivos frente a la infección. Especialmente, los macrófagos son células muy versátiles que, en respuesta a estímulos procedentes del reconocimiento de PAMP, producen un considerable número de citokinas (denominadas monokinas, por ser producidas por células del linaje de los monocitos), algunas de las cuales se consideran a continuación.

Mediadores quimiotácticos: como se indicó en el apartado 2.4.2, algunas citokinas tienen la capacidad de atraer quimiotácticamente a los leucocitos inflamatorios, por lo que se denominan quimiokinas. Los macrófagos producen quimiokinas, como IL-8, que incrementa la expresión de β_2-integrinas por los neutrófilos, favoreciendo su adhesión al endotelio y, una vez que han salido del vaso, los atraen hacia el foco inflamatorio **(Figura 8)**. Otras numerosas quimiokinas producidas por macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, etc., son quimioatrayentes para neutrófilos, macrófagos y linfocitos T (*ver Capítulo 1.4*).

Citokinas leucopoyéticas. La salida de leucocitos (neutrófilos y macrófagos) del compartimento vascular para acudir al foco inflamatorio hace descender los niveles de leucocitos circulantes. Adicionalmente, muchos de los leucocitos inflamatorios mueren en el tejido inflamado, por la acción de toxinas microbianas. Se hace por tanto necesario reponer estas células, que (como todas las células hemáticas) se originan en la médula ósea hemopoyética. Los macrófagos inflamatorios producen una citokina denominada factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF: ***G**ranulocyte **M**acrophage-**C**olony **S**timulating **F**actor*). Esta citokina pasa a sangre y al llegar a la médula hemopoyética actúa sobre células madre, progenitoras del linaje mieloide/monocitoide, promoviendo su proliferación y diferenciación en granulocitos (neutrófilos) y monocitos (precursores de macrófagos), que abandonarán la médula y pasarán a reemplazar los contingentes perdidos del compartimento vascular **(Figura 8)**.

Pirógenos endógenos e inductores de fase aguda: Tres monokinas proinflamatorias comparten estos efectos sistémicos: TNF, IL-1 e IL-6 **(Figura 8)**. La temperatura corporal está controlada por una jerarquía de estructuras neuronales, cuyo centro de coordinación se ubica en la región preóptica del hipotálamo. La fiebre es una elevación reversible de la temperatura corporal por encima del margen superior establecido por la homeostasis. Estas tres citokinas inducen la síntesis de prostaglandinas, que parecen ser los mediadores finales de la neuroestimulación hipotalámica que fija la regulación de la temperatura a un nivel superior. Aunque se suele considerar como un síntoma molesto, la fiebre es un mecanismo defensivo, conservado filogenética-

mente; incrementa la reactividad del sistema inmune y, al elevar la temperatura (aunque sea muy pocos grados) por encima de la óptima para los microorganismos patógenos, se ralentiza su proliferación.

La inducción de fiebre por TNF, IL-1 e IL-6 se acompaña de otros efectos sistémicos: somnolencia, taquicardia, incremento del catabolismo, ferropenia y un notable incremento de la síntesis, en el hígado, de las llamadas "proteínas de fase aguda". La presencia, en el plasma, de niveles elevados de estas proteínas es un indicador de inflamación de gran valor clínico. Entre las proteínas de fase aguda destacan las ya mencionadas CRP y MBP (*ver apartado 2.2.2*), que se unen a PAMP de la pared microbiana, activando, respectivamente, las vías clásica y de lectinas del complemento; la ceruloplasmina, que detoxifica de radicales oxidantes el tejido inflamado; el inhibidor de proteinasa α-1, o antitripsina, que inhibe la actividad de las proteasas liberadas por los neutrófilos, limitando el daño tisular que pueden causar; y otras proteínas plasmáticas, como el amiloide sérico A o SAA (***S**erum **A**myloid **A***) y la α_2-macroglobulina.

Además de sus efectos sistémicos, las citokinas proinflamatorias tienen actividades propias. TNF puede, en determinadas condiciones, inducir apoptosis (su nombre lo debe a su citotoxicidad para algunos tumores experimentales); en las células endoteliales, incrementa la expresión de ICAM-1, facilitando la adhesión de neutrófilos y su posterior diapédesis, y favorece la coagulación (reacción trombogénica). IL-1 también actúa sobre el endotelio vascular induciendo una reacción inflamatoria; además, es un coestimulador de la proliferación de células T en respuesta a mitógenos y promueve la maduración de los linfocitos B (en parte, de forma indirecta porque induce la síntesis de IL-6); IL-6 favorece la diferenciación de las células B activadas a células secretoras de inmunoglobulinas (*ver Capítulo 1.4*).

2.4.5. Inflamación crónica

Cuando el agente extraño cuya presencia en el medio interno ha desencadenado la reacción inflamatoria, persiste durante algún tiempo (p. ej., bacterias resistentes a la fagocitosis, o sustancias difícilmente biodegradables), la infiltración de células inflamatorias se prolonga en el tiempo y se pasa a una situación de inflamación crónica. En la inflamación crónica, los neutrófilos (que son las células predominantes en la fase aguda) son progresivamente reemplazados por células mononucleares (macrófagos y linfocitos). La persistencia del material difícil de degradar ocasiona la formación de granulomas, definidos como focos de linfocitos, macrófagos, células epitelioides, células gigantes y fibroblastos, rodeados por varias capas de tejido conectivo. Las células epitelioides, parecidas a queratinocitos, son realmente macrófagos con inclusiones de material fagocitado, no digerido, cuyo aspecto se asemeja al de la queratina. Las células gigantes son el resultado de la fusión de macrófagos o de células epitelioides, dando lugar a sincitios.

2.5. Citotoxicidad natural

En la sangre y en el tejido linfoide se encuentra una población de células que, por su morfología, se denominan linfocitos grandes granulares (LGL, de ***L**arge **G**ranular **L**ymphocytes*). Estas células son capaces de inducir la muerte de células infectadas por virus y de algunas células tumorales. Dado que no hay reconocimiento previo de antígenos específicos en las células diana (las células que son destruidas), se trata de un mecanismo de inmunidad innata, por lo que se le conoce como citotoxicidad natural, y a los LGL efectores se les denomina células matadoras naturales o NK (***N**atural **K**iller*).

Las células NK poseen una gran diversidad de receptores de superficie, de los cuales unos están implicados en la activación y otros en inhibir la actividad citotóxica **(Figura 9)**. Entre los activadores figuran NKp30, NKp44 y NKp46, que reconocen moléculas en la superficie de células tumorales o infectadas por virus; pero también otros que se unen a la superficie de células normales. El paradigma de los receptores inhibidores es KIR (***K**iller-cell **I**mmunoglobulin-like **R**eceptor*), también denominado CD158, que reconoce los antígenos de histocompatibilidad de clase I (*ver apartado 3.2.5*) presentes en todas las células normales del cuerpo. Por tanto, si una célula NK se une a una célula sana, el receptor KIR transmite una señal que bloquea la activación de la célula NK y la inducción de citotoxicidad. Pero en las células infectadas por virus frecuentemente se detiene la síntesis de proteínas celulares (en beneficio de la síntesis de proteínas víricas), por lo que no pueden reponer los antígenos de histocompatibilidad que se pierden de la superficie celular; al desaparecer los ligandos de KIR, éste no puede

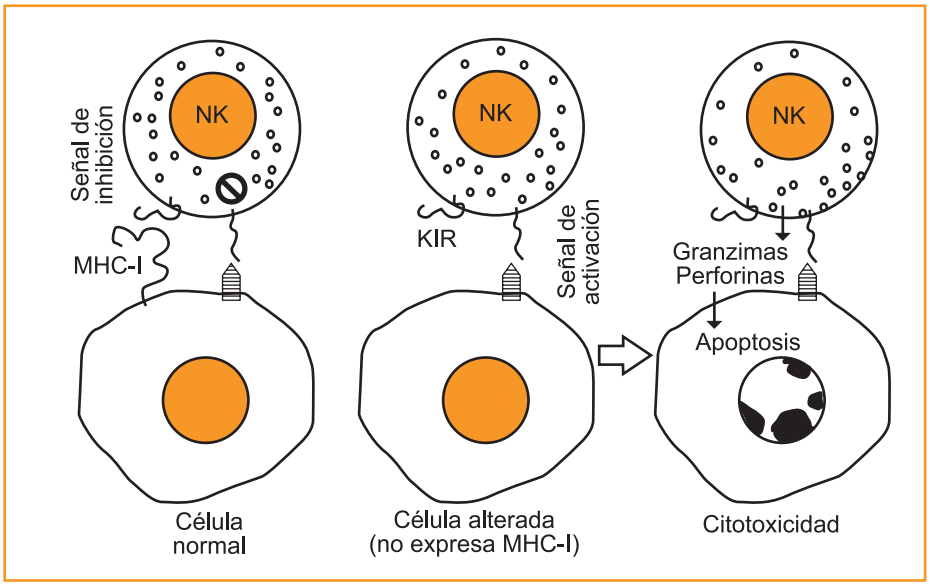


Figura 9. *Citotoxicidad mediada por células NK (***N***atural* ***K****iller). KIR:* ***K****iller-cell* ***I****mmunoglobulin-like* ***R****eceptor. MHC-I:* ***M****ajor* ***H****istocompatibility* ***C****omplex-****I****.*

transmitir señales inhibidoras, por lo que la célula NK se activa y desencadena el mecanismo de citotoxicidad. También en algunas células tumorales los antígenos de histocompatibilidad están alterados o no se expresan, lo que explica la susceptibilidad a la citotoxicidad mediada por NK.

El mecanismo de citotoxicidad consiste en la secreción de perforinas, que se polimerizan abriendo canales en la membrana citoplásmica de la célula diana, a través de los cuales penetran en ella proteasas denominadas granzimas, que ponen en marcha el proceso de muerte celular programada o apoptosis.

Las células NK expresan CD16, que es un receptor para la parte no específica de la IgG (FcγRIII); esto les permite unirse a células que expresen antígenos reconocidos específicamente por IgG y matarlas, fenómeno que se conoce como citotoxicidad mediada por células, dependiente de anticuerpos (*ver apartado 3.4.3*).

2.6. Interferones

Como la mayor parte de las citokinas, los interferones son moléculas pleiotrópicas, pero se definen por su capacidad para bloquear la replicación viral. En respuesta a determinados estímulos, una célula produce moléculas de interferón que se unen a receptores en la superficie de células vecinas, en la cuales inducen mecanismos que bloquean la síntesis de proteínas virales. Los interferones no son específicos de virus, por lo que se clasifican dentro de la inmunidad innata. En cambio, se ven limitados por barreras de especie, de forma que los interferones de otras especies animales no son capaces de inducir refractariedad a la infección vírica en células humanas, y viceversa. En su forma abreviada, el interferón se representa por las siglas IFN. Recientemente, se han descrito dos citokinas, IL-28 e IL-29, con actividad antiviral, que parecen guardar alguna relación con los IFN (*ver Capítulo 1.4*).

2.6.1. Tipos de interferones

En la especie humana se conocen dos tipos de IFN, I y II. Los de tipo I son citokinas antivirales resistentes a pH ácido, que están codificadas por genes ubicados en el cromosoma 9; mientras que el tipo II, codificado por un gen no relacionado con los anteriores, localizado en el cromosoma 12, se caracteriza por su actividad inmunorreguladora y por inactivarse cuando desciende el pH. Cada tipo de IFN se une a un receptor diferente.

Hay varios IFN de tipo I; los principales son IFN-α (una proteína generalmente no glicosilada) e IFN-β (una glicoproteína). IFN-α es producido por leucocitos, mientras que IFN-β predomina en la respuesta de fibroblastos y células de linajes no hemopoyéticos. El principal estímulo inductor de la producción de IFN de tipo I es la infección viral, y, concretamente, la presencia de RNA bicatenario. Hay que tener presente que en las células infectadas por virus con genoma constituido por RNA monocatenario, la formación de los llamados "intermediarios de replicación" (RNA de sentido complementario al genómico, necesarios para actuar como moldes en la replicación) da lugar transitoriamente a complejos de RNA bicatenario;

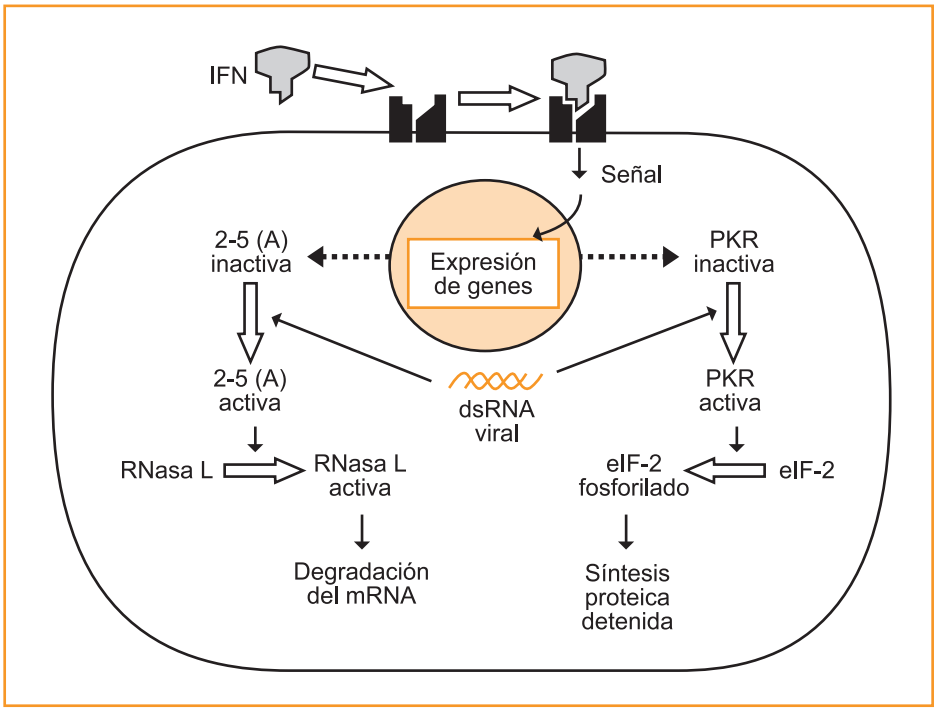


Figura 10. *Mecanismos antivirales inducidos por los interferones. PKR: proteína kinasa R; eIF-2: factor de iniciación de la traducción.*

por su parte, en los virus con genoma DNA bicatenario, la trascripción de genes contiguos en cadenas distintas, cuyas secuencias llegan a solaparse, genera moléculas de mRNA que pueden hibridar parcialmente, dando porciones bicatenarias.

El IFN de tipo II se denomina IFN-γ, y es una glicoproteína producida por células NK activadas por IL-12, y por linfocitos T activados, ya sea específicamente por antígenos, ya inespecíficamente por mitógenos.

2.6.2. Mecanismos de acción antiviral

La unión de IFN a sus receptores celulares induce la dimerización de éstos y la fosforilación de tirosinas en sus dominios citoplásmicos, catalizada por tirosina kinasas de la familia Janus (Jaks). El resultado final es la derrepresión de gran número de genes (más de 300), distintos para cada tipo de IFN, que incluyen los responsables de la acción antiviral. Los dos mecanismos principales de acción antiviral de los interferones son la inactivación de un factor de iniciación de síntesis proteica y la degradación de RNA mensajero (mRNA) en las células infectadas por virus **(Figura 10)**.

El primero de estos mecanismos se inicia con la síntesis de la enzima 2'-5'-oligoadenilato sintetasa o 2-5(A), en forma de proenzima, que alcanza su actividad enzimática en presencia de RNA bicatenario (por tanto, el mecanismo antiviral sólo será operativo en células infectadas por virus). 2-5(A) cataliza la polimerización de ATP para formar oligoadenilatos de distintas longitudes, que se unen a una enzima latente, la RNAsa L, dimerizándola. En estas condiciones, la RNAsa L degrada moléculas de mRNA, que en la célula infectada serán el resultado de la trascripción de los genes virales.

El segundo mecanismo se inicia con la síntesis de la serina-treonina proteína kinasa PKR. Como en el mecanismo anterior, PKR se forma como proenzima, que adquiere actividad en presencia de RNA bicatenario. El sustrato de PKR es un factor necesario para la síntesis de proteínas denominado eIF-2 (***e****ukaryotic Translation* ***I****nitiation* ***F****actor* ***2***); la enzima fosforila este factor, que queda irreversiblemente inactivado. Adicionalmente, la activación de PKR puede inducir apoptosis en la célula infectada.

Como se ve, ambos mecanismos convergen en un mismo resultado: la detención de la síntesis de proteínas en las células infectadas con virus. Pero los IFN también activan otros mecanismos antivirales, como la síntesis de proteínas Mx, que inhiben la replicación del virus de la gripe y de miembros de las familias *Paramyxoviridae* y *Rhabdoviridae*.

2.6.3. Otras actividades biológicas de los interferones

Los IFN ejercen diversas acciones en células no infectadas. En general, son inhibidores de la proliferación celular, lo que ha dado lugar a su empleo

como agentes antitumorales citostáticos (especialmente el IFN-α). También promueven la expresión de antígenos de histocompatibilidad (*ver apartado 3.2.6*). IFN-γ tiene un importante papel en la inmunidad celular, frente a patógenos intracelulares: induce la activación de macrófagos, un proceso que incrementa drásticamente la eficacia fagocítica y la capacidad microbicida de estas células.

3. Inmunidad específica

3.1. Antígenos

3.1.1. Conceptos de antígeno, epítopo y hapteno

Antígeno es cualquier macromolécula capaz de inducir una respuesta inmune específica. Las células que responden son linfocitos, que poseen receptores de superficie capaces de reconocer específicamente determinadas estructuras moleculares, denominadas determinantes antigénicos o epítopos, de forma que la totalidad de los linfocitos de un mamífero asegura el reconocimiento de varios millones de especificidades distintas. Por tanto, la primera condición que una molécula debe poseer para ser antígeno es la posesión de epítopos. Pero, además, se requiere un cierto tamaño molecular y complejidad estructural. Una molécula pequeña, aunque posea uno o más epítopos, no es capaz de inducir una respuesta inmune, si bien será capaz de reaccionar con anticuerpos específicos para sus epítopos. Esto permite disociar dos propiedades de los antígenos: la inmunogenicidad (capacidad de inducir respuestas) y la especificidad (capacidad de reaccionar específicamente con anticuerpos). Las moléculas que, por su pequeño tamaño, carecen de inmunogenicidad, pero, por poseer epítopos, conservan especificidad, se denominan haptenos. Si un hapteno se conjuga con una proteína de suficiente tamaño (denominada portador o *carrier*), el conjunto se comporta como un antígeno y es capaz de inducir respuestas específicas frente al hapteno. De esta forma se pueden obtener anticuerpos específicos frente a moléculas pequeñas que, de por sí, carecen de inmunogenicidad.

Los antígenos son, mayoritariamente, proteínas que reúnen las condiciones necesarias de tamaño, complejidad estructural y presencia de epítopos. Los polisacáridos ramificados también pueden ser buenos antígenos, mientras que los lípidos no destacan por sus propiedades antigénicas.

3.1.2. Inmunización, coadyuvantes y BRM

El organismo entra en contacto con antígenos extraños por diversas vías. En el periodo prenatal, dentro del claustro materno, el feto se encuentra en un entorno protegido por la barrera placentaria, por lo que los contactos con antígenos extraños son mínimos, excepto en el caso de infección intrauterina por transmisión trasplacentaria de agentes patógenos. Desde el momento del parto, el organismo queda expuesto a una notable diversidad de estímulos antigénicos. Muchos componentes de la dieta son antígenos y, aunque la mayoría son hidrolizados durante la digestión, algunas macromoléculas poco o nada degradadas atraviesan la mucosa intestinal y pasan al medio interno. De hecho, las células M de dicha mucosa están especializadas en la traslocación de macromoléculas desde la luz intestinal hasta el medio interno, donde son endocitadas por macrófagos y presentadas a linfocitos. Pero, en términos generales, la introducción de antígenos por vía oral no es adecuada para obtener buenas respuestas, excepto en el caso de microorganismos patógenos, que inducen reacciones inflamatorias (la inflamación potencia las respuestas específicas), y que, muchas veces, se diseminan a través del organismo, alcanzando los ganglios linfáticos mesentéricos e incluso el bazo, a través de la circulación sanguínea.

Los antígenos pueden ser introducidos por vía parenteral de forma natural (agentes patógenos vehiculizados por picaduras de artrópodos, o que penetran a través de heridas) o artificial (vacunas). En general, la eficacia de una inmunización depende de varios factores: unos propios del antígeno (tamaño, complejidad estructural, número y variedad de epítopos) y otros de la pauta de inmunización (dosis administrada, vía de administración, número de dosis e intervalo de tiempo entre ellas). Se conocen diversos agentes que, administrados junto con el antígeno o en intervalos de tiempo apropiados, potencian la respuesta inmune específica para dicho antígeno; a estos agentes se les denomina coadyu-

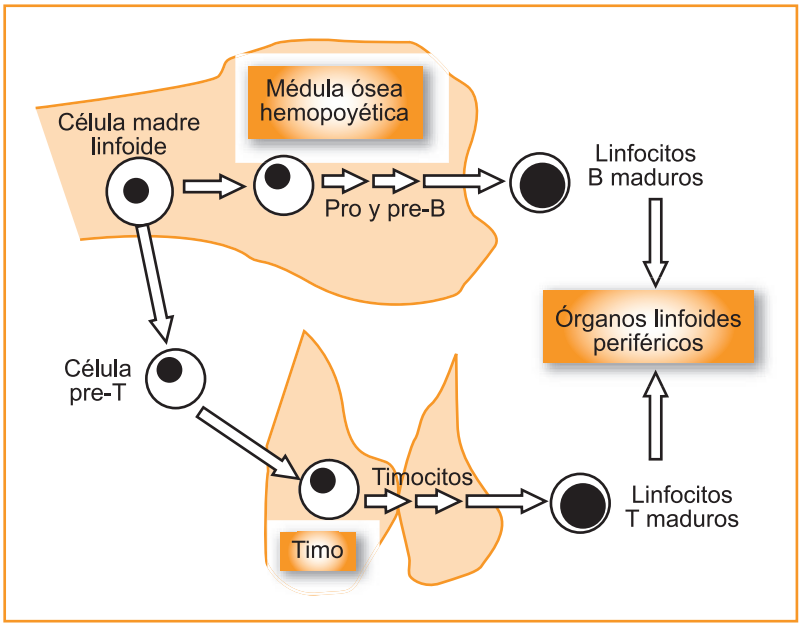


Figura 11. *Origen de los linfocitos B y T.*

vantes de la respuesta. Entre los coadyuvantes más conocidos figuran microorganismos o estructuras de origen microbiano, como el LPS o el muramil-dipéptido (derivado de la mureína). Los mecanismos de acción de los coadyuvantes son complejos, pero muchos tienen en común la capacidad de inducir reacciones inflamatorias. El término, más reciente, de "agentes modificadores de la respuesta biológica" o BRM (***B**iological **R**esponse **M**odifiers*) se aplica a sustancias capaces de ejercer efectos no específicos sobre el sistema inmune, a través de la red de citokinas, lo que incluye la capacidad de potenciar o deprimir las respuestas específicas frente a distintos antígenos (inmunomodulación).

3.2. Linfocitos, sus receptores y otras moléculas de la superficie linfocitaria

3.2.1. Linfocitos B y T

Como las otras células hemáticas, los linfocitos se originan en la médula ósea roja o hemopoyética, a partir de células madre pluripotenciales. Bajo la influencia de diversos factores hemopoyéticos, las células madres entran en sucesivas etapas de diferenciación. En las primeras etapas, se separan las células madre de las series eritroide y mieloide-monocitoide, por una parte, y de la serie linfoide, por otra. Las células progenitoras de la serie linfoide tienen dos caminos de diferenciación: el de las linfocitos B, que requiere el microambiente de la propia médula ósea, y el de las células T, que se inicia con la salida de células pre-T del compartimento medular para completar su desarrollo en el timo **(Figura 11)**. Médula ósea y timo son órganos linfoides primarios, ya que de ellos adquieren la inmunocompetencia los linajes B y T, respectivamente. Por inmunocompetencia se entiende la capacidad para responder a los estímulos antigénicos, lo que requiere poseer receptores específicos para reconocer los correspondientes epítopos. Los receptores específicos para antígenos, presentes en los linfocitos (sean B o T), están codificados por genes que adquieren su configuración definitiva mediante procesos de reorganización que ocurren durante la diferenciación en los órganos linfoides primarios. Por tanto, durante la diferenciación se adquiere la especificidad. Cada linfocito maduro expresa receptores de una única especificidad. Como, durante la diferenciación y una vez que se ha seleccionado la especificidad, hay proliferación celular, el resultado es una familia de células que, por proceder de un ancestro común (una célula que completó la reorganización de genes para definir su especificidad), comparten receptores de la misma especificidad: esto es lo que se conoce como un clon de células. Los linfocitos, tanto B como T, están organizados en clones, cada uno de los cuales representa una especificidad.

Los linfocitos B son responsables de la respuesta de anticuerpos. Las células T se agrupan en subpoblaciones: las células **T** cooperadoras o ***h**elper* (Th) colaboran con las respuestas de otros linfocitos; las células T citotóxicas o CTL (***C**ytotoxic **T L**ymphocytes*) funcionan como células citotóxicas específicas.

3.2.2. Inmunoglobulinas

Los anticuerpos son glicoproteínas específicas que se encuentran en la superficie de los linfoci-

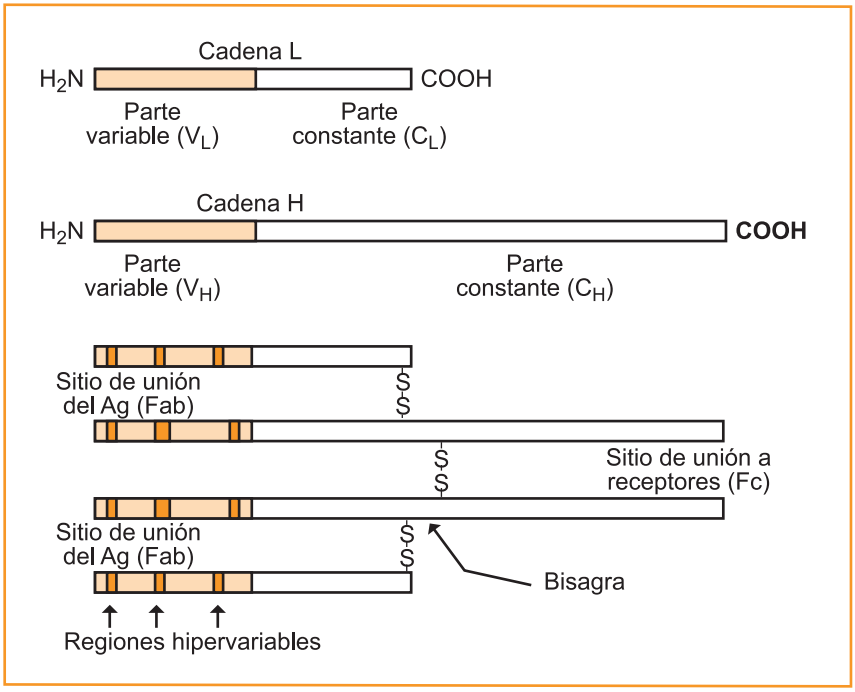


Figura 12. *Estructuras de las inmunoglobulinas.*

tos B (donde constituyen el receptor específico para antígenos), o aparecen en el plasma y otros humores orgánicos, como resultado de una respuesta inmune.

La separación electroforética de las proteínas plasmáticas sitúa a los anticuerpos en la región de las γ-globulinas. Por su función como proteínas de la inmunidad específica, se les denomina también inmunoglobulinas (abreviadamente, Ig).

Estructuralmente, una molécula de inmunoglobulina está formada por cuatro cadenas polipeptídicas, iguales dos a dos, y unidas entre sí por puentes disulfuro: las dos menores se denominan cadenas ligeras o L (***L**ight*), con una masa aproximada de 25 kDa (cerca de 220 aminoácidos), y las dos mayores, cadenas pesadas o H (***H**eavy*), de unos 50 kDa (alrededor de 440 aminoácidos) **(Figura 12)**. Esta unidad estructural, con un tamaño mínimo de 150 kDa, es bivalente (tiene dos sitios de unión al antígeno). De acuerdo con las secuencias de aminoácidos, cada cadena posee una parte aminoterminal variable (V) y una carboxiloterminal constante (C). En las cadenas L, el tamaño de V_L es aproximadamente igual al de C_L; en las H, V_H viene a ser una cuarta parte de C_H. La diversidad de aminoácidos por posición no es uniforme a lo largo de las partes V, sino que se concentra en tres regiones llamadas hipervariables. Las regiones hipervariables son las que constituyen el sitio de unión al antígeno y en ellas reside, por tanto, la especificidad de la inmunoglobulina. Como la especificidad de unión implica una complementariedad tridimensional entre el epítopo y las regiones hipervariables, éstas se denominan también CDR (***C**omplementarity-**D**etermining **R**egions*).

La estructura terciaria de las cadenas L y H incluye unos plegamientos en forma de ovillo, cerrados por puentes disulfuro intracatenarios, que se denominan dominios **(Figura 13)**. En una cadena L hay dos dominios, correspondientes a las partes V_L y C_L, respectivamente. En una cadena H hay un dominio V_H y tres (en algunas clases, cuatro) dominios C_H. Los dominios muestran semejanzas de secuencia entre sí, revelando que proceden de un gen ancestral que experimentó duplicaciones y diversificaciones durante la evolución. Junto con otras proteínas no inmunoglobulínicas, con dominios similares, las inmunoglobulinas constituyen una superfamilia de macromoléculas relacionadas filogenéticamente.

El ser humano puede producir dos tipos distintos de cadenas L, que se diferencian por las secuencias de aminoácidos de las partes C_L: estos tipos se denomina kappa (κ) y lambda (λ). En cuanto a las cadenas H, se pueden fabricar cinco clases distintas, con diferentes secuencias en las partes C_H: se denominan gamma (γ), mu (μ), alfa (α), delta (δ) y épsilon (ε). En cada molécula de inmunoglobulina, las dos cadenas L son del mismo tipo, y las dos H de la misma clase, pero en cada individuo de la especie humana están representados los dos tipos y las cinco clases, por lo que se definen como isotipos: variedades que todas ellas están presentes en cada individuo de la misma especie. A nivel celular, existe exclusión alélica para el tipo de cadena L, de forma que un mismo linfocito B producirá siempre inmunoglobulinas del mismo tipo; pero, en cambio, la clase de cadena H puede variar.

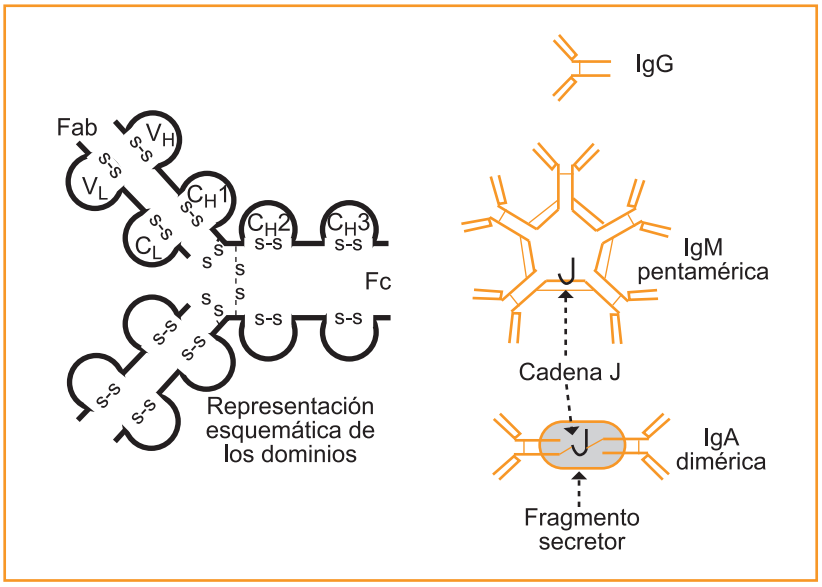


Figura 13. *Dominios globulares y estructuras de IgG, IgM sérica e IgA en secreciones (las líneas delgadas que unen monómeros representan puentes de disulfuro).*

Es importante tener presente el hecho de que una molécula de inmunoglobulina es una proteína de gran tamaño, que reúne todas las condiciones necesarias para comportarse como un antígeno. Por tanto, las moléculas de anticuerpo pueden, a su vez, actuar como antígenos. Es posible obtener anticuerpos que reconozcan específicamente los distintos isotipos (es decir, anticuerpos frente a cadenas L de tipo κ, anticuerpos frente a cadenas L de tipo λ, y, del mismo modo, anticuerpos frente a cada una de las clases de cadenas H). Obviamente, para obtener anticuerpos frente a isotipos es preciso inmunizar, con las correspondientes cadenas L o H, animales pertenecientes a una especie diferente, ya que todos los individuos de la especie humana poseen todos los isotipos y no responden frente a ellos.

Las inmunoglobulinas se clasifican en clases, según la clase a la que pertenezca la cadena H. En el ser humano, por tanto, hay cinco clases de inmunoglobulinas, denominadas con la letra inicial de la palabra griega que designa a la clase de cadena H: IgG (cadenas H de clase γ), IgM (cadenas H de clase μ), IgA (cadenas H de clase α), IgD (cadenas H de clase δ) e IgE (cadenas H de clase ε). Esta clasificación es importante, porque cada clase de inmunoglobulinas posee propiedades biológicas peculiares, que definen distintos papeles en la defensa del organismo **(Tabla 2)**. La IgG **(Figura 13)** es la única clase capaz de atravesar la barrera placentaria, lo que significa que la madre transfiere al feto anticuerpos de clase IgG que le aseguran un cierto nivel de protección pasiva durante los primeros meses de vida posnatal. La IgG es, además, la principal clase de inmunoglobulina que puede actuar como opsonina específica, ya que, como se ha indicado en el apartado 2.4.3, en la superficie de los fagocitos hay receptores para Fc de IgG. Cuando está presente en la superficie linfocitaria como receptor específico de antígeno, la IgM adopta forma monomérica (por monómero se entiende la unidad estructural de cuatro cadenas), pero la IgM sérica es un pentámero, constituido por cinco unidades estructurales idénticas entre sí y un péptido de 15 kDa denominado cadena J **(Figura 13)**. Sólo la IgM y la IgG son capaces de activar la vía clásica del complemento cuando se unen a sus antígenos específicos. Los anticuerpos de clase IgA presentes en el suero son monómeros, pero en las secreciones de las mucosas la IgA está en forma dimérica (dos monómeros y una cadena J), y va unida a una proteína no inmunoglobulínica llamada pieza secretora **(Figura 13)**. La IgD sérica es muy escasa; su principal papel es como receptor en la superficie linfocitaria. Finalmente, la IgE tiene la propiedad de unirse, por su parte no específica, a receptores en la superficie de mastocitos; cuando dos o más moléculas de IgE se entrecruzan en la superficie del mastocito, por haberse unido al antígeno, se genera una señal de activación que causa la desgranulación de la célula (liberándose histamina), y la síntesis y liberación de derivados activos del ácido araquidónico (prostaglandinas y leucotrienos).

3.2.3. Generación de la diversidad de especificidades

El sistema inmune de un mamífero como el ser humano tiene capacidad para reconocer varios millones de epítopos diferentes. Este repertorio de

Tabla 2. CLASES DE INMUNOGLOBULINAS Y SUS PROPIEDADES

Propiedad	IgG	IgM	IgA	IgD	IgE
Concentración sérica (mg/ml)	13	1,4	4	0,03	< 0,0005
Peso molecular y configuración	150.000 Monómero	180.000 Monómero (receptor de células B) 900.000 Pentámero (plasma)	160.000 Monómero (plasma) 350.000 Dímero (secreciones)	180.000 Monómero	190.000 Monómero
Activación de C1q	Sí	Sí	No	No	No
Paso a través de la placenta	Sí	No	No	No	No
Unión a receptores en células	Sí (FcγR) en NK y fagocitos	No	Sí (FcαR) en fagocitos	No	Sí (FcεR) en mastocitos

especificidades se consigue mediante procesos de reorganización génica que ocurren durante la diferenciación de las células inmunocompetentes.

En el genoma humano hay tres *loci* independientes que contienen genes de inmunoglobulinas: uno para las cadenas L de tipo κ (en el cromosoma 2), otro para las de tipo λ (cromosoma 22) y un tercero para las cadenas H (cromosoma 14).

Una cadena κ es el resultado de la trascripción de tres exones: V, que codifica la mayor porción de la parte variable, desde el extremo amino-terminal hasta la tercera de las regiones hipervariables (incluyendo dos regiones hipervariables y parte de la tercera); J, que codifica lo que resta de la parte variable (no confundir con la cadena J de las inmunoglobulinas multiméricas, ya que no guardan ninguna relación), y C, que codifica la totalidad de la parte constante. En la línea germinal, el *locus* κ presenta unos 50 segmentos V funcionales; y, a cierta distancia de ellos, cinco secuencias J seguidas de un único exón C. El proceso de reorganización que ocurre durante la diferenciación de los linfocitos B consiste en que uno de los segmentos V se fusiona con uno de los segmentos J, ambos elegidos aleatoriamente. Cuando este bloque génico se transcribe, la secuencia que separa al segmento J elegido del exón C se comporta como un intrón y, por tanto, es cortada y eliminada del mRNA maduro **(Figura 14)**. Teóricamente, este proceso de reorganización génica permite generar 50 x 5 = 250 especificidades distintas, que en realidad son más, ya que existe un cierto grado de imprecisión en la elección del punto de recombinación entre V y J.

En las cadenas λ, el proceso es similar, con algunas peculiaridades: el número de segmentos V funcionales no llega a 40; y hay cuatro segmentos C, cada uno de ellos asociado a una secuencia J.

Una cadena H está codificada por los exones V, D y J, para la parte variable, más tres o cuatro exones C (uno por cada dominio), para la constante (adicionalmente, hay dos exones finales para una porción extra, carboxilo-terminal, que constituye la parte transmembrana y la cola citoplásmica de la cadena H en el caso de las inmunoglobulinas ancladas en la superficie linfocitaria como receptores específicos para el antígeno). En la línea germinal, hay poco más de 40 segmentos V, una treintena de segmentos D y seis segmentos J, seguidos de los

exones correspondientes a las partes constantes μ, λ, ε y α. La reorganización de genes incluye una primera fusión, entre un segmento D y uno J, y una segunda, entre un segmento V y el bloque DJ. Un cálculo teórico arroja más de 7.200 posibles especificidades, que habría que multiplicar por la suma de especificidades de ambos tipos de cadenas L (> 400): el resultado se aproxima a 3×10^6, pero en realidad es mayor, porque la ya señalada imprecisión en la recombinación contribuye a la generación de diversidad también en las cadenas H (incluso en mayor grado que en las L).

Las células B expresan primero receptores de la clase IgM, por lo que la transcripción se detiene entre los exones μ y δ. Posteriormente, se transcribe un mRNA que contiene los exones de ambas clases de cadenas H, y un mecanismo de rotura (*splicing*) alternativo permite a la célula B sintetizar receptores IgM e IgD, obviamente con la misma especificidad (el bloque VDJ no cambia, sólo cambian los exones de la parte constante). En el curso de la respuesta de anticuerpos, nuevas reorganizaciones y delecciones permiten a las células cambiar la clase de inmunoglobulina producida, siempre sin que la especificidad se vea afectada (*ver apartado 3.4.2*).

La reorganización de genes de inmunoglobulinas en las células B está limitada por fenómenos de exclusión alélica. Por ello, todas las células de un mismo clon fabrican inmunoglobulinas de una única especificidad (y no de doble especificidad, que sería lo esperado si las reorganizaciones ocurriesen tanto en los cromosomas maternos como en los paternos), y con un solo tipo de cadena L.

3.2.4. Receptor de células B y marcadores de diferenciación del linaje B

El receptor específico de antígeno de las células B, o BCR (***B-C****ell* ***R****eceptor*), es un complejo que incluye una molécula de inmunoglobulina, anclada en la superficie celular a través del segmento transmembrana y del tallo citoplásmico de las cadenas H. El tallo citoplásmico es demasiado pequeño para participar en las reacciones que generan las señales de activación celular, por lo que esta función corre a cargo de un heterodímero inespecífico: dos cadenas peptídicas unidas por puentes disulfuro, denominadas Igα-Igβ o, en el sistema CD de nomenclatura de proteínas superficiales, CD79a-CD79b. Los tallos citoplásmicos de estas dos cadenas poseen motivos ITAM (*ver apartado 2.4.3*) y son capaces de iniciar vías de activación. La estructura del BCR se presenta en la **Figura 15**. Cabe ya adelantar aquí el concepto de que la activación de una célula con el potencial defensivo de los linfocitos es un fenómeno complejo, y que generalmente requiere de señales accesorias (coestimulación).

Los marcadores de diferenciación celular son moléculas, propiedades y funciones que aparecen o se pierden a lo largo del proceso de diferenciación de un linaje celular, y que, por tanto, permiten definir diversos estados de diferenciación. En el caso de las células B, el proceso ocurre en la médula roja o hemopoyética. Las células madre, dado su estado de indiferenciación, son muy pobres en marcadores. La célula madre linfoide

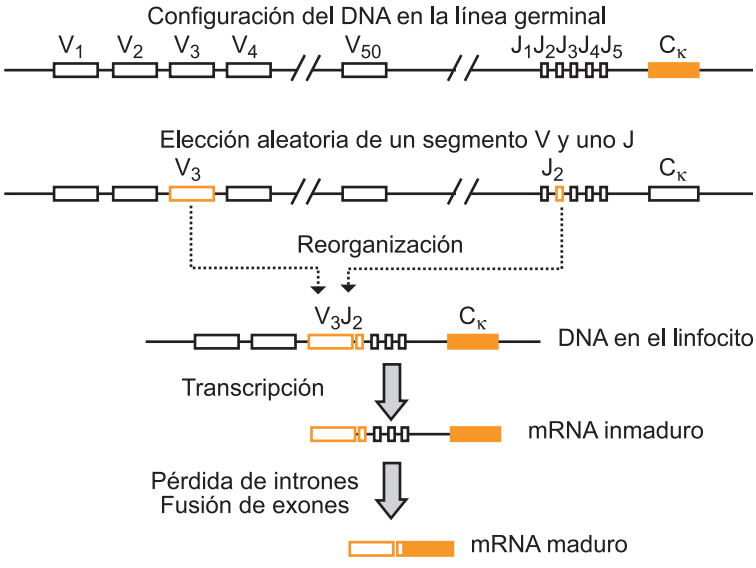


Figura 14. *Generación de diversidad y expresión de las cadenas κ.*

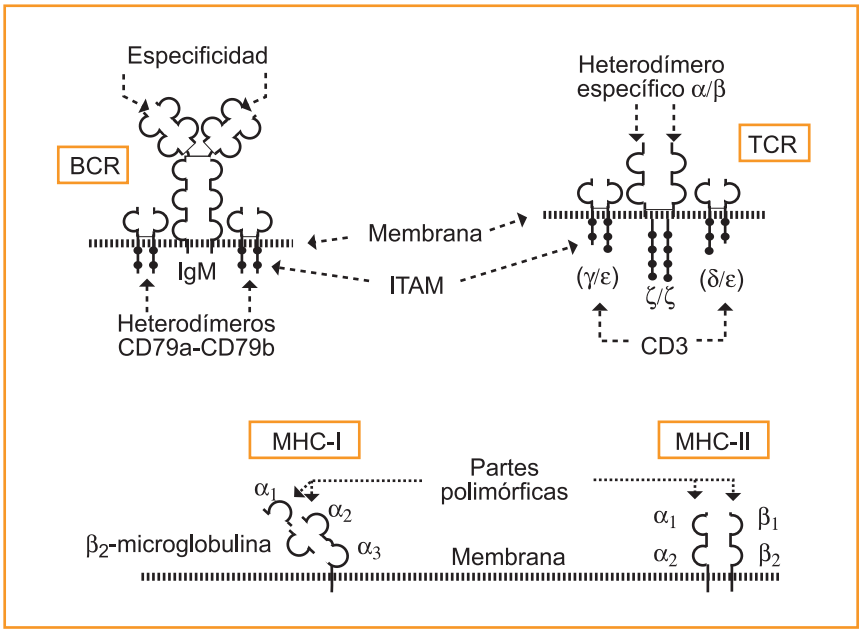


Figura 15. *Estructuras del BCR (***B-C**ell **R**eceptor*), TCR (***T-C**ell **R**eceptor*) y antígenos de histocompatibilidad de clases I y II. MHC-I:* **M**ajor **H**istocompatibility **C**omplex-**I**; *MHC-II:* **M**ajor **H**istocompatibility **C**omplex-**II**; *ITAM:* **I**mmunoreceptor **T**yrosine-based **A**ctivation **M**otifs.

expresa la molécula de superficie CD34, que estará presente tanto en las células B como en las T. La diferenciación del linaje B se inicia con el primer paso en la reorganización de los genes de cadenas H, consistente en la fusión de los segmentos D y J; paralelamente, se expresa el heterodímero Igα-Igβ; además, aparece ya un marcador superficial típico del linaje, la molécula CD19, y otro que se perderá en el curso de la diferenciación, CD10: este estadio se denomina pro-B. El siguiente estadio es el pre-B, en el cual se completa la reorganización de los genes de cadenas H y, posteriormente, se reorganizan los de cadenas L, con lo que la célula ya ha fijado su especificidad y dará origen a un clon; las cadenas H y L aparecen en el citoplasma a finales de este estadio, en el que se expresan, además de CD10 y CD19, otros marcadores como CD21, CD22, CD38 y CD40. En el estadio siguiente, que es el de células B inmaduras, aparece la inmunocompetencia (capacidad de responder al estímulo antigénico), ya que se expresa el BCR, constituido por IgM de membrana asociado a Igα-Igβ; se pierden CD10 y CD38, y se inicia la expresión de CD23. El paso a célula B madura conlleva la expresión simultánea de IgM e IgD de membrana (*splicing* alternativo de mRNA) (*ver apartado 3.2.3*). La activación, en respuesta al antígeno específico, incluye la pérdida progresiva de marcadores: las células B activadas pierden CD21 y CD23; las células terminales de este linaje, que son los plasmocitos, han perdido la mayor parte de los marcadores, aunque reexpresan CD38. Los plasmocitos funcionan como fábricas de anticuerpos, que son secretados y aparecen en el plasma.

La búsqueda de marcadores superficiales, mediante técnicas de inmunofluorescencia, usando anticuerpos específicos para ellos, y la detección de las reorganizaciones génicas, mediante hibridación con sondas, permite definir el estadio de diferenciación en que se encuentra una célula B. Pero, obviamente, los marcadores CD son proteínas de la superficie celular que desempeñan diversas funciones fisiológicas. CD21 es CR2, receptor de C3d; es capaz de unir antígenos microbianos que hayan activado el complemento, y entonces forma con CD19 un complejo que genera señales de coestimulación para la célula B. CD40 es el receptor de CD154 (antes llamado CD40L, de ***CD40 L**igand*), a través del cual la célula B recibe también señales coestimuladoras (*ver apartado 3.4.1*).

3.2.5. Sistema principal de histocompatibilidad

Los trasplantes alogénicos (entre individuos de la misma especie) suscitan reacciones de rechazo, debidas al reconocimiento, por el sistema inmune del receptor, de antígenos presentes en los tejidos del donante pero no compartidos por el receptor. Los más importantes de estos antígenos están codificados por genes que forman un complejo denominado MHC (***M**ajor **H**istocompatibility **C**omplex*), lo que se traduce como "complejo principal de histocompatibilidad". En el ser humano, el MHC se designa con las siglas HLA (***H**uman **L**eucocyte*

***A**ntigens)* y está ubicado en el brazo corto del cromosoma 6. Durante mucho tiempo, se ignoró el significado biológico de estos aloantígenos (antígenos distribuidos dentro de una especie, de forma que hay grupos de individuos definidos por expresar unas u otras especificidades, como ocurre con los grupos sanguíneos), pero hoy se sabe que juegan un papel esencial en el reconocimiento de antígenos extraños por los linfocitos T.

Existen dos tipos de antígenos codificados por el MHC: las moléculas de clase I y las de clase II. Ambas pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Los antígenos de clase I están constituidos por una cadena, designada como cadena α, con tres dominios extracelulares, una parte transmembrana y una cola citoplásmica **(Figura 15)**. Las partes polimórficas de esta molécula (es decir, aquellas partes donde la secuencia de aminoácidos puede variar de unos individuos a otros, y donde residen, por tanto, los epítopos que definen los distintos aloantígenos) se localizan en los dominios α_1 y α_2, que son los más alejados de la superficie celular. Las moléculas de clase I se asocian (de forma no covalente) a una proteína extracelular invariante, llamada β_2-microglobulina, cuyo papel es mantener desplegada en una determinada configuración espacial a la cadena α. Es muy importante tener presente, en relación con su función biológica, que los antígenos de clase I se expresan, en mayor o menor cantidad, en todas las células nucleadas del cuerpo.

Los antígenos de clase II son heterodímeros, compuestos de una cadena α y otra β, ambas constituidas por dos dominios extracelulares y las correspondientes partes transmembrana y citoplásmica **(Figura 15)**. Las partes polimórficas residen en los dominios más alejados de la superficie celular, que son α_1 y β_1, respectivamente. La expresión de estos antígenos está restringida a determinados linajes celulares: macrófagos, células de Langerhans, células dendríticas y linfocitos B.

En el ser humano, existen tres *loci* funcionales para genes de clase I, designados como HLA-A, HLA-B y HLA-C, y otros tres para clase II, que son HLA-DP, HLA-DQ y HLA-DR. Para cada uno de estos *loci* se conocen gran número de alelos, y cada individuo tiene dos juegos de ellos, uno en el cromosoma materno y otro en el paterno. En consecuencia, la posibilidad de que dos humanos (que no sean gemelos univitelinos) coincidan en su repertorio de aloantígenos HLA es mínima.

3.2.6. Receptor de células T

El receptor específico para antígenos de las células T, o TCR (***T**-**C**ell **R**eceptor*) es un complejo de varias proteínas **(Figura 15)**. La especificidad reside en un heterodímero, que puede estar constituido por una cadena α y otra β, o bien por una cadena γ y otra δ; en ambos casos, las cadenas pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas y están unidas por un puente disulfuro. Hay una población, mayoritaria, de células Tα/β, y otra, mucho menor, Tγ/δ. La especificidad reside en las partes variables de estas cadenas, que contienen regiones hipervariables, generadas por reorganización de segmentos de genes de la línea germinal, de forma similar a como se ha visto para las inmunoglobulinas (*ver apartado 3.2.3*).

Hay que señalar aquí ya el concepto de que las células T, a diferencia de las B, no interaccionan nunca con antígenos nativos, sino que reconocen fragmentos (epítopos) de antígenos extraños, presentados en la superficie de células auxiliares, asociados a los antígenos del MHC expresados por dichas células auxiliares (el procesamiento y presentación de antígenos por las células auxiliares se explica en el (*ver apartado 3.3.1*). El TCR reconoce simultáneamente una estructura propia (antígeno de histocompatibilidad propio) y otra ajena (epítopo de un antígeno extraño). Como ocurre con el BCR, el reducido tallo citoplásmico del heterodímero específico no es capaz de intervenir en las reacciones de fosforilación necesarias para iniciar una señal de activación. Este papel lo cumplen las proteínas inespecíficas del TCR: un complejo de dos heterodímeros denominado globalmente CD3, constituido por los pares γ/ε y δ/ε (no confundir con las cadenas H de los mismos nombres); y un homodímero ζ/ζ, cuyos tallos citoplásmicos contienen motivos ITAM.

3.2.7. Ontogenia de células T, marcadores y subpoblaciones

Las células progenitoras del linaje T, procedentes de la célula madre linfoide ($CD34^+$), abandonan la médula ósea y pasan al timo, donde se denominan timocitos. En este órgano, las células adquieren el marcador CD2, y, posteriormente, ocurren las reorganizaciones génicas que les permiten expresar

el TCR, incluyendo el complejo CD3. Ambos son marcadores "pan-T", esto es, están presentes en todas las células del linaje. La diferenciación de los timocitos α/β está bien definida: junto con CD3, expresan también los marcadores CD4 y CD8, presentando el fenotipo $CD2^+CD3^+CD4^+CD8^+$. Más del 95% de las células que proliferan en el timo mueren por apoptosis, como resultado de un doble proceso de selección que ocurre en este estadio: la selección positiva rescata a los timocitos cuyo TCR muestra afinidad por los antígenos propios del MHC (un cierto grado de afinidad es necesario para que el TCR reconozca epítopos extraños asociados a moléculas del MHC propio), y la selección negativa elimina a los que expresan un TCR con alta afinidad por dichos antígenos (eliminando, así, los clones potencialmente autorreactivos). Las selecciones positiva y negativa constituyen la llamada "educación intratímica", para la cual son necesarias interacciones de los timocitos con otros linajes celulares presentes en el timo: en la selección positiva parecen participar las células del epitelio tímico, mientras en la negativa participan células de origen hemopoyético (macrófagos, células dendríticas) igualmente presentes en este órgano. La maduración de los timocitos α/β concluye con la pérdida de uno de los dos marcadores CD4 o CD8, y así se separan dos fenotipos: $CD2^+CD3^+CD4^+CD8^-$, que corresponde a la subpoblación de linfocitos T cooperadores o *helper* (células Th), y $CD2^+CD3^+CD4^-CD8^+$, que corresponde a la subpoblación de linfocitos T citotóxicos o CTL (***C**ytotoxic **T L**ymphocytes*). Ambas subpoblaciones abandonan el timo y pasan a colonizar los órganos linfoides periféricos.

Como ya se ha indicado, los marcadores CD son proteínas superficiales con funciones propias. En concreto, CD4 posee afinidad por partes no polimórficas de las moléculas MHC-II; por este motivo, las células Th reconocen epítopos extraños asociados a moléculas MHC-II propias. Por su parte, CD8 tiene afinidad por partes no polimórficas de las moléculas MHC-I, por lo que los CTL reconocen epítopos extraños asociados a moléculas MHC-I propias. Las células T sólo reconocen epítopos extraños asociados a moléculas MCH propias; la combinación epítopo propio/MHC propio no debe ser reconocida si la educación intratímica ha sido correcta (se trataría de células T autorreactivas), y la combinación epítopo extraño/MHC extraño tampoco, ya que la selección positiva rescata timocitos cuyo TCR tenga afinidad (aunque baja) por los antígenos MHC propios, que son los únicos representados en el entorno tímico (el requisito de que la célula T y la presentadora de antígeno sean histocompatibles se denomina restricción de histocompatibilidad). Pero, además, las células T pueden distinguir entre antígenos extraños sintetizados fuera de las células propias, esto es, antígenos exógenos, y antígenos extraños sintetizados dentro de células propias (p. ej., por un patógeno intracelular), o sea, antígenos endógenos (nótese que endógeno no significa propio). Como se explica en los apartados siguientes, los epítopos de antígenos exógenos son presentados en asociación con moléculas MHC-II, a células T $CD4^+$ (es decir, Th), mientras que los epítopos de antígenos endógenos son presentados, en asociación con moléculas MHC-I, a células T $CD8^+$ (es decir, CTL).

Además de su papel decidiendo qué subpoblación de linfocitos T puede responder frente a un antígeno, según cuál sea la molécula MHC presentadora, tanto CD4 como CD8 actúan como correceptores, siendo necesarios para la activación del TCR. Otras moléculas de superficie intervienen en la recepción de señales coestimuladoras, como CD28, que es el receptor de CD80, expresado por las células presentadoras de antígeno.

3.3. El papel crucial de las células Th

3.3.1. Presentación de epítopos a las células Th

Sólo aquellos linajes celulares que expresan moléculas MHC-II son capaces de presentar antígenos a las células Th. Células dendríticas, macrófagos y linfocitos B reúnen esta condición y, por ello, se las considera "células presentadoras de antígeno profesionales" o APC (***A**ntigen-**P**resenting **C**ells*). El sistema linfático está organizado de forma que la presentación de antígenos a células Th ocurra mayoritariamente en los órganos linfoides periféricos. Los antígenos extraños presentes en un tejido pueden ser arrastrados por el drenaje linfático y, al llegar al ganglio local o regional, serán endocitados por los macrófagos o las células dendríticas que allí abundan, procesados y presentados a los linfocitos

Th. Alternativamente, las llamadas células de Langerhans, que no son sino precursores de células dendríticas ubicados en la piel, pueden endocitar antígenos y dejarse llevar por el drenaje linfático hasta los ganglios, donde ellas mismas llevarán a cabo la presentación. Funciones parecidas desempeñan los macrófagos atraídos quimiotácticamente a un foco inflamatorio.

Las APC ingieren antígenos que estaban inicialmente fuera de ellas, es decir, antígenos exógenos. El procesamiento de los antígenos exógenos endocitados incluye su hidrólisis parcial por la acción de las proteasas endosomiales, generándose diversos oligopéptidos. Por su parte, la APC sintetiza continuamente nuevas moléculas de histocompatibilidad, para reponer las que se pierden de la superficie celular (las proteínas superficiales suelen presentar una alta tasa de recambio o *turnover*). Las moléculas MHC-II recién sintetizadas pasan del retículo endoplásmico al aparato de Golgi y de allí a las vesículas endosómicas, donde coinciden con los oligopéptidos resultantes de la digestión proteolítica del antígeno. Aquellos oligopéptidos con un tamaño y características apropiadas encajan en la hendidura que existe entre las partes polimórficas de las cadenas α y β (es decir, entre los dominios α_1 y β_1). Los complejos MHC-II/péptido que alcancen un suficiente grado de estabilidad, son finalmente exportados hasta la membrana celular. Los péptidos capaces de unirse establemente a moléculas MHC-II son, por tanto, los epítopos reconocidos por las células Th; frecuentemente, corresponden a secuencias internas del antígeno, que, en cambio, no pueden actuar como epítopos para las células B, ya que el BCR interacciona con el antígeno nativo (sin procesamiento previo) y, por tanto, sólo puede reconocer epítopos externos, que sobresalgan de la superficie del antígeno. En consecuencia, las células T y las B suelen reconocer epítopos diferentes en la misma molécula antigénica.

Como ya se ha indicado, las células Th tienden a unirse transitoriamente a las APC, en base a la afinidad existente entre CD4 y partes no polimórficas de la molécula MHC-II. En tal situación, la parte específica del TCR tiene la oportunidad de examinar el conjunto formado por las partes polimórficas de la molécula MHC-II y el oligopéptido encajado en la ranura. Si la especificidad del TCR no coincide con la combinación propio/extraño de este conjunto, la célula Th se separará y será sustituida por otra. Cuando, finalmente, el oligopéptido sea presentado a un TCR capaz de reconocer específicamente esa combinación propio/extraño, se iniciará el proceso de activación de la correspondiente célula Th. Los ITAM de los tallos citoplásmicos de los heterodímeros CD3 y del homodímero ζ, que forman parte del TCR, son fosforilados por una kinasa asociada al correceptor CD4. A partir de aquí, se ponen en marcha varias vías de señalización, que finalmente determinan la activación de factores de transcripción y la derrepresión de gran número de genes.

En la relación entre la APC y la célula Th intervienen numerosas moléculas de la superficie de ambas células, además de las anteriormente mencionadas. Estas interacciones se ven facilitadas por una peculiar reorganización de las membranas citoplásmicas de ambas células, en la zona de contacto, que recibe el nombre de "sinapsis inmunológica". La sinapsis se forma a partir de los llamados dominios de membrana (en inglés, *rafts*), zonas discretas con una composición lipídica diferente al resto de la membrana (en los *rafts* lipídicos predominan esfingolípidos y colesterol, en lugar de fosfolípidos). La sinapsis concentra, en la superficie de la célula Th, complejos TCR, correceptores (CD4), coestimuladores (CD28) y moléculas de adhesión. De especial importancia es la necesidad de señales coestimuladoras, generadas como consecuencia de la interacción de CD28 con su ligando, CD80 (también llamado B7). CD80 es expresado por las células dendríticas, por macrófagos estimulados (p. ej., por PAMP bacterianos) y por linfocitos B activados. Algunos pasos claves en las vías de transducción de la señal de activación generada por el TCR dependen de la coestimulación desde CD28. En ausencia de coestimulación, el proceso de activación celular no puede completarse y la célula T llegará a una situación de anergia (falta de respuesta), o incluso podría entrar en apoptosis. El conjunto de este complicado diálogo celular se resume en la **Figura 16**.

Por último, hay que tener presente que las células del sistema inmune también se comunican a distancia: las citokinas son moléculas mensajeras que se unen a receptores en la superficie celular, donde generan las correspondientes señales. Diversas citokinas pueden potenciar o deprimir el proceso de activación de la célula Th, que, a su vez, una vez activada, producirá su propio perfil de citokinas.

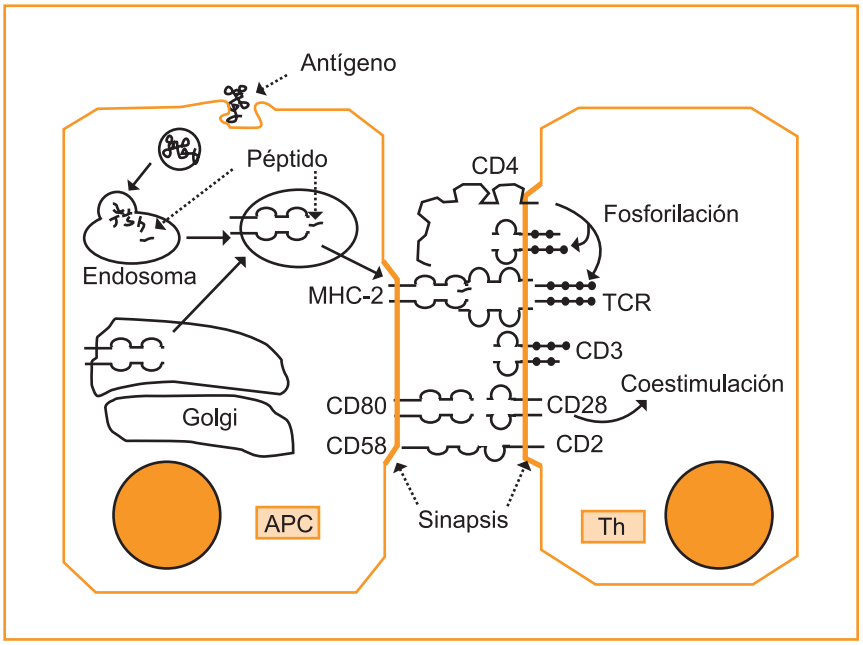


Figura 16. *Reconocimiento de antígenos exógenos y activación de células Th. APC:* **A**ntigen-**P**resentig **C**ells.

Si el proceso de activación se completa satisfactoriamente, la célula activada entra en el ciclo celular y se divide repetidamente, lo que determina la ampliación del clon. En condiciones óptimas, como las aportadas por la presencia de reacciones inflamatorias inducidas por agentes patógenos o por coadyuvantes de la respuesta inmune, se han descrito ampliaciones de hasta un centenar de veces, respecto del número inicial de células en el clon. Sin embargo, se ha observado que muchas de las células resultantes mueren en el tejido linfoide. Si la inmunización se ha realizado en condiciones óptimas, la proporción de células que sobreviven es mayor. Las células supervivientes se convierten en células T memoria.

3.3.2. Respuestas Th1 y Th2

Una vez activados, los linfocitos Th tiene ante sí dos opciones de diferenciación: pueden convertirse en Th1, que producen IL-2 e IFN-γ; o en Th2, productoras de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. La elección de una u otra opción depende de varios factores, entre ellos el microambiente de citokinas previamente generado como consecuencia de las interacciones entre los agentes patógenos y las células de la inmunidad innata. Los patógenos extracelulares, que interaccionan con sistemas humorales como el complemento, causan la activación de mastocitos por anafilotoxinas, y los mastocitos activados producen IL-4, la cual promueve la diferenciación en Th2; estas células cooperan con los linfocitos B en la respuesta de anticuerpos. Los patógenos intracelulares estimulan la producción de IL-12 por los macrófagos, y la IL-12 promueve la diferenciación en Th1; estas células participan en la inmunidad celular (*ver apartado 3.5.1*), eficaz frente a este tipo de patógenos. La diferenciación en Th1 o Th2 ocurre durante la expansión del clon.

La elección de uno u otro tipo de respuesta no es necesariamente excluyente; por ejemplo, los antígenos de los patógenos intracelulares también inducen respuestas de anticuerpos con cooperación de linfocitos Th2, ya que frecuentemente se encuentran fuera de las células, lo que les permite interaccionar con el sistema del complemento (aparte del hecho de que las citokinas producidas por Th1 también favorecen la producción de algunas subclases de IgG). Sin embargo, el predominio de una u otra opción de diferenciación Th es de importancia crucial, ya que favorecerá una rama de la inmunidad adaptada al tipo de agente patógeno.

3.4. Respuesta de anticuerpos

3.4.1. Activación de linfocitos B

Algunos antígenos (generalmente, polisacarídicos) son capaces de activar células B sin necesitar la cooperación de linfocitos Th2, por lo que se denominan timo-independientes; pero, mayoritariamente, los antígenos proteicos son timo-dependientes.

Como se ha explicado en el apartado 3.3, una APC endocita moléculas de un determinado an-

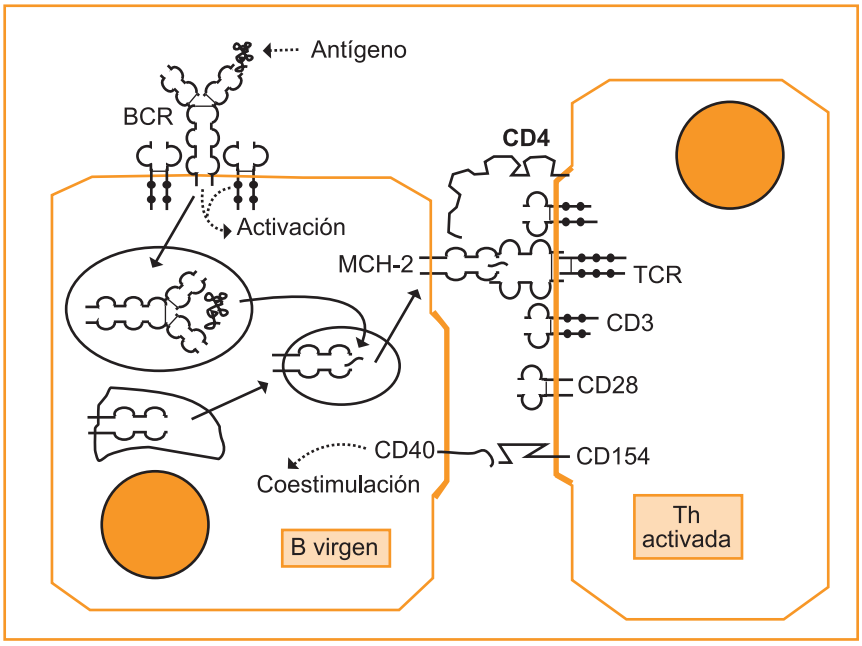


Figura 17. *Activación de células B. BCR:* **B**-**C**ell **R**eceptor.

tígeno extraño, las procesa por la vía de los antígenos exógenos y presenta los correspondientes epítopos en el hueco configurado por las partes polimórficas de la molécula MHC-II. Una célula Th, mediante su TCR, reconoce un epítopo asociado a la molécula MHC-II compatible, y se activa, diferenciándose en Th2.

Paralelamente, un linfocito B ha reconocido, mediante su BCR, un epítopo en la superficie de otras moléculas del mismo antígeno. Una consecuencia de ello es la generación de una primera señal de activación, que se inicia con la fosforilación de los ITAM presentes en las cadenas citoplásmicas del heterodímero CD79, a cargo de tirosina kinasas citoplásmicas como Lyn o Syk.

Otra consecuencia del reconocimiento del antígeno por el BCR es que el complejo inmunoglobulina/antígeno es endocitado por el linfocito. En la vesícula endocítica, el descenso del pH disocia el complejo, y el antígeno es procesado por proteasas lisosomiales (las mismas que actuaron en el procesamiento del antígeno por la célula dendrítica que lo presentó al linfocito Th). Finalmente, el linfocito B, actuando como una APC, presentará a las células Th los mismos epítopos que presentó la célula dendrítica. Pero hay una diferencia, y es que ya existen células Th que han respondido a esos epítopos y se han activado como células Th2. La activación conlleva algunas alteraciones en los patrones de expresión de moléculas de la superficie celular. Entre ellos, destaca la expresión de CD154, ausente en las células T vírgenes, pero presente en las activadas. CD154 es el ligando de CD40, un receptor de coestimulación presente en la superficie de las células B. En términos de transferencia de información, cuando CD40 interacciona con CD154, es como si la célula Th2 le contase a la B que ella también se ha encontrado con el mismo antígeno. En cambio, una célula Th virgen no podría enviar este mensaje, ya que carece de CD154. El mensaje recibido a través de CD40 tiene, para la célula B, el valor de una segunda señal de activación. Los intercambios de señales entre las células B y Th se hacen a través de una sinapsis inmunológica, como se ha explicado en el apartado 3.3.1. El proceso de activación se esquematiza en la **Figura 17**.

Adicionalmente, el linfocito B en proceso de activación puede recibir señales procedentes de citokinas. Dentro del perfil de citokinas producidas por células Th2, el trío IL-4, IL-5 e IL-6 actúan sobre las células B preactivadas, promoviendo la proliferación y diferenciación a plasmocitos y los cambios de clase de las inmunoglobulinas secretadas.

La activación completa del linfocito B tiene varios efectos. Por una parte, hay alteraciones en la expresión de moléculas de la superficie celular: entre las que aparecen, cabe destacar CD80, cuya presencia permitirá al linfocito B enviar señales coestimuladoras, vía CD28, a las sucesivas células Th del mismo clon específico que se vaya encontrando (los pares CD80/CD28 y CD40/CD154, generadores de señales coestimuladoras, permiten a células B y Th irse pasando sucesivamente el mensaje de activación). Por otra parte, las células B activadas entran en el ciclo celular, convirtiéndose en linfoblastos. Parte de estos linfoblastos se diferencian a plasmocitos secretores de anticuerpos, mientras que otros originan células B memoria.

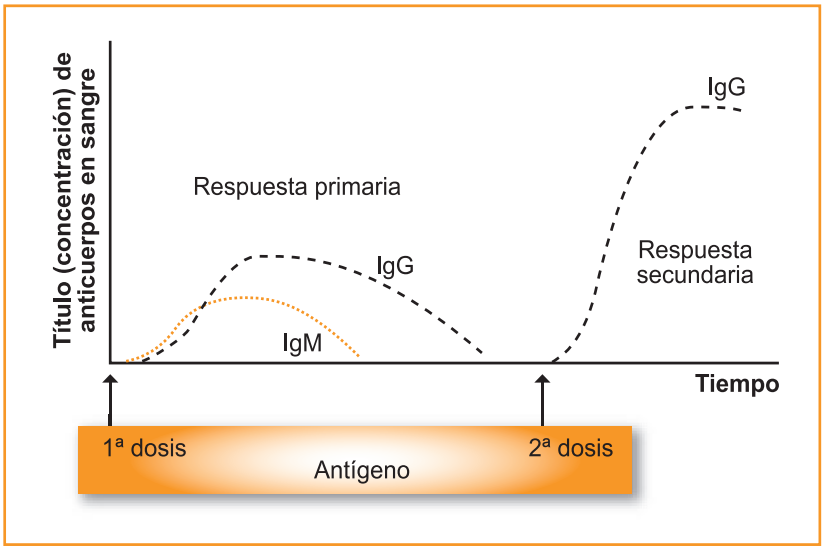


Figura 18. *Producción de anticuerpos séricos: respuestas primaria y secundaria.*

3.4.2. Producción de anticuerpos, cambios de clase y maduración de afinidad

La cooperación de células Th2 es necesaria para el cambio de clase de inmunoglobulinas y el incremento de afinidad de los anticuerpos en el curso de la respuesta, así como para la generación de memoria. Al analizar estos aspectos de la respuesta de anticuerpos, es preciso distinguir entre respuesta primaria, que es la que corresponde a la primera vez que el sistema inmune entra en contacto con un determinado antígeno, y respuesta secundaria, que es la que se obtiene en contactos posteriores con el mismo antígeno, y se basa, por tanto, en la memoria inmunológica desarrollada tras el primer contacto.

Los primeros anticuerpos secretados por linfoblastos y plasmocitos en el curso de la respuesta primaria son la forma soluble de la IgM de membrana que constituye el BCR **(Figura 18)**. Sin embargo, durante la expansión clonal, ocurre un cambio de clase (*isotipe switching*) que conduce a la producción mayoritaria de anticuerpos de clase IgG, aunque también se producen IgA, y, en determinados casos, cantidades apreciables de IgE (ciertos antígenos, como los de parásitos animales, inducen respuestas de IgE; y personas en las que concurren determinados factores genéticos tienen facilidad para realizar potentes respuestas de IgE frente a antígenos irrelevantes, lo que es causa de algunos tipos de alergia, incluyendo alergias a alimentos).

El cambio de isotipo se debe a una nueva reorganización de los genes de inmunoglobulinas, reorganización inducida por algunas citokinas; sólo se produce en células que han sido coestimuladas a través de CD40; y es irreversible, porque conlleva la delección de los segmentos C_H correspondientes a los dominios constantes de las cadenas μ, de modo que la célula que hace el cambio y sus descendientes ya no pueden volver a sintetizar IgM. Como las células B memoria se generan a partir de células que ya han realizado el cambio de clase, las respuestas ulteriores al mismo antígeno (respuesta secundaria) no incluyen producción apreciable de IgM **(Figura 18)**.

La afinidad es la medida de la fuerza de unión del anticuerpo al antígeno. Es un concepto distinto del de especificidad: anticuerpos distintos pueden tener igual especificidad (reconocen el mismo epítopo) pero diferentes afinidades (unos se unen con más fuerza que otros). La afinidad depende del ajuste fino, topográfico y de distribución de cargas, entre el epítopo y las CDR, y se puede variar si en las regiones hipervariables se producen cambios puntuales de un aminoácido por otro.

A lo largo de la respuesta primaria de anticuerpos se observa un incremento de afinidad. Los primeros anticuerpos que se producen (la IgM y las primeras IgG) son de baja afinidad, pero al final de la respuesta, los anticuerpos de clase IgG son de alta afinidad. Estos mismos anticuerpos de alta afinidad son los que aparecen en la respuesta secundaria. La causa del incremento de afinidad es el proceso de maduración de afinidad, que se describe a continuación.

Tras su activación por el antígeno y las células Th2, las células B proliferan y parte de ellas se diferencian en plasmocitos que producen los primeros anticuerpos. Otras migran a los folículos primarios (las áreas ocupadas por los linfocitos B en los órganos linfoides periféricos), donde proliferan en torno a las llamadas "células dendríticas foliculares", constituyendo un microambiente especializado, distinguible dentro del folículo como un "centro germinativo". Las células dendríticas foliculares son

células especializadas en capturar y retener por largo tiempo moléculas intactas de antígeno (no guardan relación con las células dendríticas que actúan como APC para los linfocitos Th). Las células B que proliferan en el centro germinativo se llaman centroblastos. En los centroblastos se pone en marcha un mecanismo de hipermutación que afecta a la totalidad de los bloques $V_HD_HJ_H$ y V_LJ_L, sin afectar a los exones no recombinados que codifican los dominios constantes. Las mutaciones no se limitan a las CDR, pero sólo las que las afectan tienen posibilidad de repercutir en la afinidad, ya sea aumentándola o disminuyéndola. Los centroblastos originan centrocitos, cuyas inmunoglobulinas de membrana son ya portadoras de los cambios debidos al mecanismo de hipermutación. Los centrocitos están programados para morir, pero son rescatados de la apoptosis si las inmunoglobulinas de membrana se mantienen unidas al antígeno. Obviamente, las inmunoglobulinas mutadas de los distintos centroblastos competirán entre sí y con las moléculas solubles de los anticuerpos ya producidos, por las moléculas de antígeno retenidas por las células dendríticas foliculares; esta competencia seleccionará a los centroblastos portadores de inmunoglobulinas de alta afinidad, que serán los únicos que sobrevivan y generen plasmocitos y células B memoria.

3.4.3. Los anticuerpos como moléculas efectoras

Los anticuerpos pueden ejecutar una diversidad de funciones defensivas, lo que en muchos casos depende de las propiedades de la clase de inmunoglobulina. En este apartado, se describen algunas de estas funciones.

Eliminación de antígenos: cuando se introduce un antígeno extraño en el medio interno, y tras su distribución en los distintos compartimentos del organismo, se alcanzan unos niveles plasmáticos que irán descendiendo gradualmente, a medida que el antígeno (generalmente, una proteína) es catabolizado y asimilado o excretado. Pero la aparición de anticuerpos específicos acelera drásticamente la cinética de desaparición del antígeno. Ello es debido a la formación de inmunocomplejos, en cuya formación generalmente participan anticuerpos de las clases IgM o IgG; los inmunocomplejos activan la vía clásica del anticuerpo, se recubren de C3b y sus derivados, y son depurados de la sangre por los fagocitos fijos abundantes en órganos muy irrigados como el bazo y el hígado.

Neutralización de toxinas y de virus: muchas toxinas, como las exotoxinas bacterianas, son proteínas que, para ejercer su acción tóxica, han de unirse a receptores en la superficie celular. Un anticuerpo que se una, con suficiente afinidad, al ligando de la toxina, o a algún epítopo lo suficientemente próximo como para que el ligando quede bloqueado o distorsionado, interferirá en la unión de la toxina al receptor celular. Los virus también usan ligandos, ubicados en la superficie del virión, para unirse a receptores celulares; el bloqueo de estos ligandos por anticuerpos de alta afinidad impide su acceso a los receptores y neutraliza la infectividad. Adicionalmente, anticuerpos que se unan a otros epítopos de la superficie del virión y que no impidan su unión a receptores celulares, pueden ser neutralizantes si interfieren con etapas posteriores del proceso de infección vírica, como son la entrada en la célula y la descapsidación que libera el genoma viral en el interior de la célula. Los anticuerpos neutralizantes de toxinas y virus suelen ser IgG de alta afinidad.

Opsonización específica: como ya se ha indicado en el apartado 2.4.3, los anticuerpos de la clase IgG pueden actuar como opsoninas específicas, facilitando la fagocitosis de microorganismos y poniendo en marcha los mecanismos microbicidas contenidos en los fagocitos.

Activación de la vía clásica del complemento: la capacidad de los anticuerpos de clases IgM e IgG para activar la vía clásica del complemento les faculta para desencadenar todos los efectos biológicos descritos en el apartado 2.2.3, incluyendo la inducción de inflamación y la lisis de células portadoras de antígenos superficiales extraños, lisis de bacterias Gram-negativas e inactivación de virus con envoltura.

Citotoxicidad mediada por células, dependiente de anticuerpos: hay células con potencial citotóxico, como las NK o los macrófagos activados, que poseen en su membrana FcγRs; por tanto, anticuerpos de clase IgG que reconozcan específicamente antígenos extraños (p. ej., virales) en la superficie de una célula (que será la célula "diana"), pueden unirse por la parte no específica (Fc) a los FcγRs. La molécula de anticuerpo actúa entonces de puente de unión entre la célula diana y la célula efectora

citotóxica, la cual destruirá a la célula diana. Se trata de otra conexión entre la inmunidad innata y la específica: la célula que mata no es específica, pero el anticuerpo marca específicamente a la célula diana para su destrucción. Este mecanismo se conoce como citotoxicidad (es la muerte de una célula) mediada por células (la que mata es otra célula) dependiente de anticuerpos (la IgG conecta ambas células, diana y efectora), o ADCC (***A**ntibody-**D**ependent **C**ell-Mediated **C**ytotoxicity*).

3.5. Inmunidad celular

3.5.1. Respuesta de células Th1 y activación de macrófagos

Como ya se ha indicado, la activación de células T $CD4^+$ en un entorno apropiado conduce a su diferenciación en Th1. Uno de los factores determinantes es la producción de IL-12 por los macrófagos que han fagocitado patógenos intracelulares. El patrón de citokinas producidas por las células Th1 incluye IL-2 e IFN-γ. IL-2 estimula la proliferación de las células T activadas. Como las propias células Th1 expresan el receptor para IL-2, esta citokina ejerce una estimulación autocrina. En cuanto al IFN-γ, entre sus diversas acciones destaca su participación en la activación de macrófagos.

Los patógenos intracelulares, ya sean bacterias como *Salmonella*, *Listeria*, *Mycobacterium* o *Legionella*, o protozoos como *Tripanosoma* o *Leishmania*, están adaptados a vivir, no sólo en células no fagocíticas, sino incluso en macrófagos. Para ello, ponen en juego diversas estrategias, mediadas por los correspondientes factores de virulencia: ser endocitados por vías que no estimulen los mecanismos microbicidas, inhibir la fusión lisosomial, escapar de los fagosomas al citoplasma, etc. Por esto, el proceso de activación de macrófagos es crucial en la inmunidad frente a patógenos intracelulares: los macrófagos activados incrementan su actividad fagocítica y la expresión de mecanismos microbicidas (como la producción de radicales de nitrógeno activo), de forma que son capaces de matar a los patógenos intracelulares, a pesar de sus factores de virulencia y sus estrategias de adaptación.

La activación de macrófagos se inicia con la señal promovida por la unión de IFN-γ a sus receptores superficiales, pero parece ser necesaria una segunda señal coestimuladora, que podría provenir de la interacción entre moléculas de las superficies del macrófago y de la célula Th1, de otras citokinas como el TNF, o incluso de algunos PAMP.

Además de las células Th1, otras células pueden producir IFN-γ: es el caso de las NK y de las Tγ/δ. Se acepta que la producción precoz de IFN-γ por células NK constituiría un primer paso en la estrategia para contener la infección por patógenos intracelulares, aunque insuficiente para conseguir su completa eliminación, que correría finalmente a cargo de la inmunidad celular, más lenta pero más eficiente. Un papel similar podrían tener las células Tγ/δ, cuyo repertorio de especificidades parece mucho más restringido que el de las células Tα/β.

Los macrófagos activados, como consecuencia de su potencial microbicida, basado en gran parte en la producción de radicales oxidantes, son células muy agresivas que pueden causar daños en los tejidos del organismo. Pero la vida del macrófago activado es corta, ya que la activación parece poner en marcha el programa de apoptosis, lo que limita los posibles daños tisulares.

3.5.2. Linfocitos T citotóxicos

En el apartado 3.2.7 se señalaba la posibilidad de que los antígenos microbianos se sinteticen fuera de la célula presentadora (antígenos exógenos) o dentro de ella (antígenos endógenos). En cada caso, la vía de procesamiento es diferente.

Las proteínas sintetizadas dentro de cualquier célula del organismo están sometidas a un proceso de control: algunas de estas proteínas son degradadas por proteasas citosólicas agrupadas en un complejo de casi 30 subunidades, al que se denomina proteosoma. Como estas proteasas son distintas de las existentes en los lisosomas, un mismo antígeno se descompone en oligopéptidos diferentes, según que sea procesado por la vía endógena o por la exógena (es decir, los epítopos reconocidos por células T $CD8^+$ y por células T $CD4^+$ son diferentes).

Los oligopéptidos resultantes de la digestión por el proteosoma pasan a la luz del retículo endoplásmico (por acción de transportadores especializados), donde se encuentran con las moléculas MHC-I recién sintetizadas, y, algunos de ellos, son capaces de encajar en la hendidura existente entre

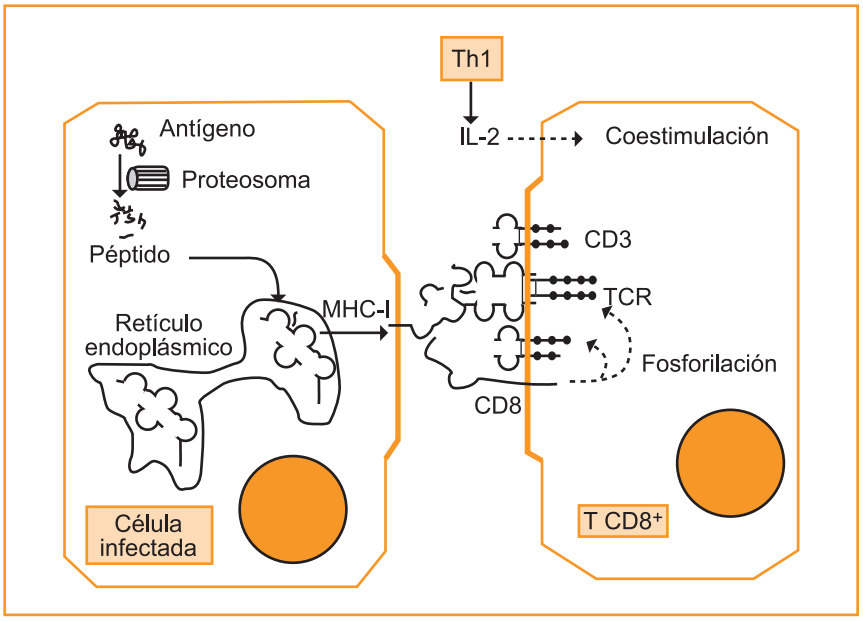


Figura 19. *Reconocimiento de antígenos endógenos por células T CD8⁺. MHC-I:* **M**ajor **H**istocompatibility **C**omplex-**I**.

los dominios polimórficos α_1 y α_2. De esta manera, las moléculas MHC-I que, finalmente, se insertan en la membrana celular, van cargadas con los correspondientes oligopéptidos.

La afinidad existente entre la molécula CD8 y partes no polimórficas de la molécula MHC-I hace que esta subpoblación de células T tenga la capacidad de unirse transitoriamente a células de los diversos tejidos y explorar, mediante su TCR, los oligopéptidos que se le presentan. Como siempre, las combinaciones MHC-I propio/oligopéptido propio no serán reconocidas (los clones T autorreactivos han sido eliminados durante la educación intratímica), pero las combinaciones de MHC-I con oligopéptidos extraños (o propios alterados, procedentes de proteínas mutadas) tienen alta probabilidad de encontrar clones que las reconozcan específicamente. El proceso se esquematiza en la **Figura 19**.

Dado que todas las células nucleadas del organismo expresan moléculas MHC-I, todas ellas pueden, en caso de infección por un patógeno intracelular (protozoo, bacteria o virus), presentar los correspondientes epítopos a las células T CD8⁺. La cooperación de células Th1, productoras de IL-2, es necesaria para una activación óptima.

La activación de las células T CD8⁺ las convierte en linfocitos citotóxicos específicos (CTL), que matarán a las células que presenten en su superficie la combinación de MHC-I con el epítopo que corresponda a la especificidad del clon. El mecanismo de muerte parece ser la inducción de apoptosis (como en el caso de las células NK). Está claro que esta respuesta defensiva causa la destrucción de células propias infectadas. En el caso de la infección por virus, la destrucción de la célula infectada evita su conversión en una fábrica de nuevos viriones, lo que, ciertamente, contribuye a limitar la infección. El balance del mecanismo defensivo dependerá, por un lado, de la patogenicidad del virus, y, por otro, de la importancia de la célula destruida y las posibilidades de reemplazarla (p. ej., en una infección leve del sistema nervioso, la acción de los CTL puede ser más perjudicial que beneficiosa, con el resultado de agravar la patología). En el caso de infecciones por bacterias intracelulares, la destrucción de la célula infectada libera a las bacterias, que resultan así susceptibles de ser fagocitadas por macrófagos activados (hay una colaboración entre los dos brazos paralelos de la inmunidad celular).

4. Resumen

- El sistema inmune opera reconociendo y eliminando estructuras extrañas al organismo. Estas funciones permiten mantener el medio interno libre de la colonización por microorganismos patógenos. Se pueden distinguir dos grandes niveles de reconocimiento de estructuras: el de la inmunidad no específica (también denominada innata), que limita su capacidad de discriminación a distinguir entre las estructuras propias y algunas estructuras extrañas, comunes a grandes grupos de microorganismos, y denominadas PAMP; y el de la inmunidad específica, basado en la generación de una enorme diversidad de receptores, cada uno de los cuales reconoce una determinada estructura (epítopo), ya sea propia o extraña, lo que implica a su vez el desarrollo obligado de mecanismos que impidan la autoagresión.

- Gran número de mecanismos de la inmunidad innata participan en la elaboración de reacciones inflamatorias, definidas por la extravasación de plasma y la infiltración del tejido con leucocitos neutrófilos, macrófagos y, posteriormente, linfocitos. Los sistemas de quininas y del complemento son conjuntos de proteínas plasmáticas que se activan en presencia de PAMP y ponen en marcha reacciones inflamatorias. La fagocitosis, por neutrófilos y macrófagos, es el mecanismo defensivo principal en el foco inflamatorio. En la inmunidad frente a virus, juegan un papel clave los mecanismos de citotoxicidad natural, a cargo de células NK, y la producción de interferones.

- La inmunidad específica es elaborada por los linfocitos, en respuesta al reconocimiento de antígenos. Los linfocitos están organizados en clones; los componentes de cada clon comparten receptores de la misma especificidad y reconocen al mismo antígeno. Los genes que codifican receptores específicos adoptan su configuración definitiva en las células precursoras linfoides, por reorganización de segmentos génicos presentes en la línea germinal. Los linfocitos B adquieren sus receptores específicos en la médula ósea, y son los responsables de la respuesta de anticuerpos. Los linfocitos T adquieren sus receptores específicos en el timo y se agrupan en dos subpoblaciones, Th y T citotóxicos o CTL. A su vez, hay dos subpoblaciones Th: las células Th1 participan en la inmunidad celular, sobre todo a través de la activación de macrófagos, mientras que las células Th2 cooperan con los linfocitos B en la respuesta de anticuerpos frente a los antígenos timodependientes. Los linfocitos B se activan por interacción con antígenos nativos, reconociendo epítopos externos; pero las células T sólo reconocen epítopos (oligopéptidos) asociados a moléculas de histocompatibilidad, en la superficie de células presentadoras que, previamente, han procesado e hidrolizado parcialmente al antígeno. Los fenómenos de presentación de antígenos y cooperación entre células requieren la interacción de ligandos y receptores de la superficie celular y la producción de citokinas.

- Los anticuerpos desempeñan diversas funciones defensivas: eliminación acelerada de antígenos por formación de inmunocomplejos, neutralización de virus y toxinas, opsonización de microorganismos, y fenómenos de citólisis, bacteriólisis y virólisis mediados por la activación del complemento. La inmunidad celular promueve la destrucción de patógenos intracelulares, por activación de macrófagos, y de células infectadas, mediada por CTL.

5. Bibliografía

Annual Review of Immunology (anual, desde 1983). Annual Reviews. California.
Colección de revisiones autorizadas y rigurosas sobre temas de actualidad en inmunología. Cada volumen anual incluye un índice acumulativo, ordenado por temas.

Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA, Kuby K. Immunology, 5th ed. WH Freeman. New York, 2003.
Un texto excelente de inmunología fundamental, con buena iconografía y muy didáctico.

Janeway CA, Travers, P, Walport M, Shlomchik MJ. Immunobiology, 3rd ed. Current Biology. London, 2003.
Uno de los mejores textos de inmunobiología, por su enfoque original y adaptado a los más recientes conocimientos, su excelente nivel, compatible con unas sobresalientes cualidades didácticas, y el apoyo de una magnífica iconografía.

Roitt IM, Delves PJ. Roitt's Essential Immunology, 10th ed. Blackwell. London, 2001.
Desde principios de los 70, se han sucedido las ediciones del texto de Ivan Roitt, que, realmente, son un exponente fiel de la historia reciente de la inmunología. Los últimos formatos han enriquecido notablemente la iconografía, manteniendo el estilo didáctico y conceptual de las primeras ediciones. Sigue siendo muy recomendable.

Rose NR, Hamilton RG, Detrick B (eds.). Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th ed. ASM Press. Washington, 2002.
Compendio periódicamente actualizado de inmunología clínica, cubre aspectos básicos y técnicos de todas las situaciones clínicas en las que se recurre al diagnóstico inmunológico.

Sánchez-Pérez M (ed.). Introducción a la inmunología humana, 1ª ed. Editorial Síntesis. Madrid, 1997.
Compilación de capítulos de varios autores; el nivel es excelente y tiene la ventaja de estar escrito originalmente en castellano.

Sell S. Immunology, Immunopathology and Immunity, 6th ed. ASM Press. Washington, 2001.
Tratado amplio, actualizado, que reúne, como indica el título, aspectos fundamentales y aplicados (inmunidad de los procesos infecciosos y enfermedades de base inmunológica).

6. Enlaces web

- www.inmunologia.org/main.htm
- www.efis.org
- www.med.sc.edu:85
- www.roitt.com

1.36. Sistema inmunológico intestinal: nutrición e inmunidad

Ricardo Rueda Cabrera

Capítulo 1.36.

Sistema inmunológico intestinal: nutrición e inmunidad

- **1. Introducción**
- **2. Diferencias entre los sistemas inmunológicos sistémico e intestinal**
- **3. Interacciones entre nutrientes y microbiota, y su influencia sobre el sistema inmunológico intestinal**
- **4. Efectos de la desnutrición sobre el sistema inmunológico**
- **5. Alimentación al pecho *versus* alimentación artificial y el sistema inmunológico**
  - 5.1. Componentes de la leche materna y su papel clave
  - 5.2. Función inmunológica en niños alimentados al pecho *versus* niños alimentados con fórmula
- **6. Influencia de nutrientes específicos sobre el sistema inmunológico**
  - 6.1. Nitrógeno proteico
  - 6.2. Nitrógeno no proteico
  - 6.3. Lípidos
  - 6.4. Hidratos de carbono
  - 6.5. Otros compuestos
    - 6.5.1. Minerales
    - 6.5.2. Vitaminas
- **7. Nutrición y alergia**
- **8. Probióticos y sistema inmunológico**
  - 8.1. Probióticos y estimulación de la respuesta inmunológica
  - 8.2. Probióticos y prevención de la respuesta atópica
- **9. Nutrición y respuesta inmunológica en la vejez**
- **10. Inmunonutrición**
- **11. Resumen**
- **12. Bibliografía**
- **13. Enlaces web**

Objetivos

- Entender la importancia del sistema inmunológico intestinal como órgano diana de la capacidad inmunomoduladora de nutrientes.
- Conocer las principales diferencias entre el sistema inmunológico intestinal y sistémico.
- Describir las interacciones entre microbiota, nutrientes y sistema inmunológico a nivel intestinal, así como sus consecuencias, especialmente durante las primeras etapas de la vida.
- Describir cuáles son las principales consecuencias que la desnutrición determina en el desarrollo y mantenimiento del sistema inmunológico.
- Conocer la influencia de la nutrición sobre el sistema inmunológico del individuo sano, especialmente durante periodos críticos de la vida, tales como la infancia y la vejez.
- Describir cuáles son los principales nutrientes específicos, a los cuales se les reconoce una actividad inmunomoduladora.
- Entender los conceptos de probióticos y prebióticos.
- Conocer la importancia de la incorporación de prebióticos y probióticos a productos nutricionales y cuál es su influencia como inmunomoduladores.
- Entender el concepto de inmunonutrición.
- Describir la influencia de la nutrición sobre el sistema inmunológico en ciertas situaciones patológicas.

1. Introducción

El estudio de los efectos específicos de diferentes nutrientes y de diversos tipos de alimentación sobre el sistema inmunológico ha despertado un enorme interés durante los últimos años. Las primeras investigaciones se centraron en los efectos que la desnutrición provoca sobre el sistema inmunológico, siendo las principales conclusiones que la desnutrición proteico-energética y el déficit individual de nutrientes inhiben el desarrollo del sistema inmunológico. Sin embargo, recientemente ha cobrado interés el estudio de la influencia de la nutrición sobre el sistema inmunológico del sujeto sano, especialmente durante determinados periodos de la vida.

Los efectos positivos ejercidos por determinados alimentos o ingredientes alimentarios sobre el sistema inmunológico pueden estar relacionados con acontecimientos nutricionales tempranos o pueden ser la consecuencia de su ingesta durante décadas o cambios en el estilo de vida. Aunque no se sabe a ciencia cierta si existen periodos de tiempo críticos durante los cuales la inclusión de un determinado alimento puede ser especialmente beneficiosa para el sistema inmunológico, parece claro que la primera infancia y la vejez constituyen periodos de especial atención.

Diversos estudios han mostrado el efecto beneficioso que algunos nutrientes ejercen sobre el sistema inmunológico; sin embargo, muchos de estos estudios tienen limitaciones asociadas. Una de las principales limitaciones hace referencia a qué constituyentes del sistema inmunológico deben ser investigados. Está claro que el primer contacto entre los alimentos y el sistema inmunológico tiene lugar a nivel del tracto gastrointestinal y, por otro lado, el desarrollo y los mecanismos funcionales del sistema inmunológico regional en el tracto gastrointestinal son relativamente independientes de los de la inmunidad sistémica. La interacción de diversos factores, tales como la microbiota intestinal y nutrientes a nivel local, pueden influenciar los mecanismos reguladores íntimos de la función inmunológica intestinal, especialmente durante las primeras etapas de la vida.

La leche humana contiene algunos componentes, tales como nucleótidos o gangliósidos, capaces de influenciar la funcionalidad inmunológica a muy bajas concentraciones. La acción específica de estos micronutrientes sobre parámetros de la inmunidad intestinal, así como los potenciales mecanismos de acción inducidos por dichos micronutrientes pueden ser causa de algunas de las diferencias encontradas entre niños alimentados al pecho y niños alimentados con fórmulas artificiales. Sin embargo, existen muy pocos datos acerca de cómo otros nutrientes específicos, tales como proteínas, lípidos, hidratos de carbono, minerales y vitaminas, influencian el desarrollo y funcionalidad del sistema inmunológico intestinal y sistémico, y de cómo lo modulan en el adulto.

Es importante resaltar que el estudio de los efectos de la nutrición sobre la inmunidad es un tema controvertido. De hecho, recientes revisiones sobre este tema se cuestionan si el sistema inmunológico es un órgano diana para alimentos funcionales o si la llamada inmunonutrición es una fuente solucionadora de problemas o es simplemente problemática, haciendo un juego de palabras. Quedan muchos interrogantes sin resolver en este campo, tales como éstos:

1. Hay muchas variaciones en la funcionalidad inmunológica entre distintos individuos, incluso entre personas sanas, cuyas causas no se conocen.

2. Aunque está claro que individuos con respuestas inmunológicas por debajo de lo "normal" son más susceptibles a la infección, no está claro cómo la variación en la función inmunológica entre personas sanas se relaciona con la variación en la susceptibilidad a la infección.

3. No está claro si respuestas inmunológicas incrementadas se traducen realmente en resistencia incrementada frente a la infección.

4. Componentes diferentes del sistema inmunológico muestran una relación dosis-respuesta individual con respecto a la disponibilidad de un nutriente determinado.

5. Existen interacciones entre nutrientes tales que un exceso de un nutriente podría afectar negativamente al *status* de otro nutriente.

Probablemente, todos estos interrogantes son consecuencia de numerosos factores que representan fuentes de variación de la respuesta inmunológica, tales como la genética, el género, la edad, el estado hormonal, la exposición a patógenos, la historia de vacunaciones, el estrés, el ejercicio, el consumo de tabaco y alcohol, la obesidad, etc. Sin embargo, también es cierto que el estado nutricional y la dieta constituyen quizás una de las fuentes principales de variación, y que durante los últimos 10 años se ha avanzado notablemente en aclarar los mecanismos por los cuales una nutrición adecuada puede modular positivamente el desarrollo de una inmunidad adecuada.

El objeto del presente Capítulo es revisar los efectos específicos de nutrientes sobre el desarrollo del sistema inmunológico. Para ello, se describe la importancia de la interacción entre nutrientes y el sistema inmunológico intestinal, así como de la interacción entre nutrientes y la microbiota intestinal y su influencia sobre un adecuado desarrollo del sistema inmunológico. También se describe, de forma muy breve, la influencia de la nutrición sobre el sistema inmunológico en ciertas patologías y situaciones de enfermedad, ya que este aspecto es discutido ampliamente en el Capítulo 4.41.

2. Diferencias entre los sistemas inmunológicos sistémico e intestinal

El sistema inmunológico intestinal, también conocido como tejido linfoide asociado a intestino (GALT) es un órgano linfoide secundario, que está a cargo de procesar aquellos antígenos que interaccionan con la mucosa intestinal y de diseminar la respuesta inmunológica. Se pueden distinguir dos tipos principales de poblaciones linfocitarias a nivel intestinal: los sitios inductivos, es decir, donde se inicia la respuesta inmunológica tras la estimulación por parte de un antígeno, siendo las placas de Peyer la población más típica, y los sitios efectores, es decir, los responsables de ejecutar y finalizar la respuesta inmunológica. A este nivel se pueden distinguir dos tipos principales de poblaciones linfocitarias: los linfocitos de la lámina propia (LPL), localizados en la parte interna de la vellosidad intestinal, y los linfocitos intraepiteliales (IEL), localizados entre los enterocitos a lo largo de la vellosidad. Es importante destacar que, además de los linfocitos de placas de Peyer (PPL), los linfocitos peritoneales, particularmente las células B-1, constituyen una importante población precursora de parte de las células plasmáticas localizadas en la lámina propia. Por tanto, se pueden distinguir también dos poblaciones inductivas principales a nivel intestinal: las células B-2, localizadas en las placas de Peyer, y las células B-1, localizadas en el peritoneo. La **Figura 1** representa las principales poblaciones linfocitarias inductivas y efectoras y su localización a nivel intestinal.

Los antígenos presentes en el lumen intestinal son transportados al interior de las placas de Peyer a través de las células M, que están localizadas entre los enterocitos en el epitelio. Una vez en las placas de Peyer, los antígenos interaccionan con células presentadoras de antígeno (APC), las cuales se encargan de presentar dichos antígenos a células B

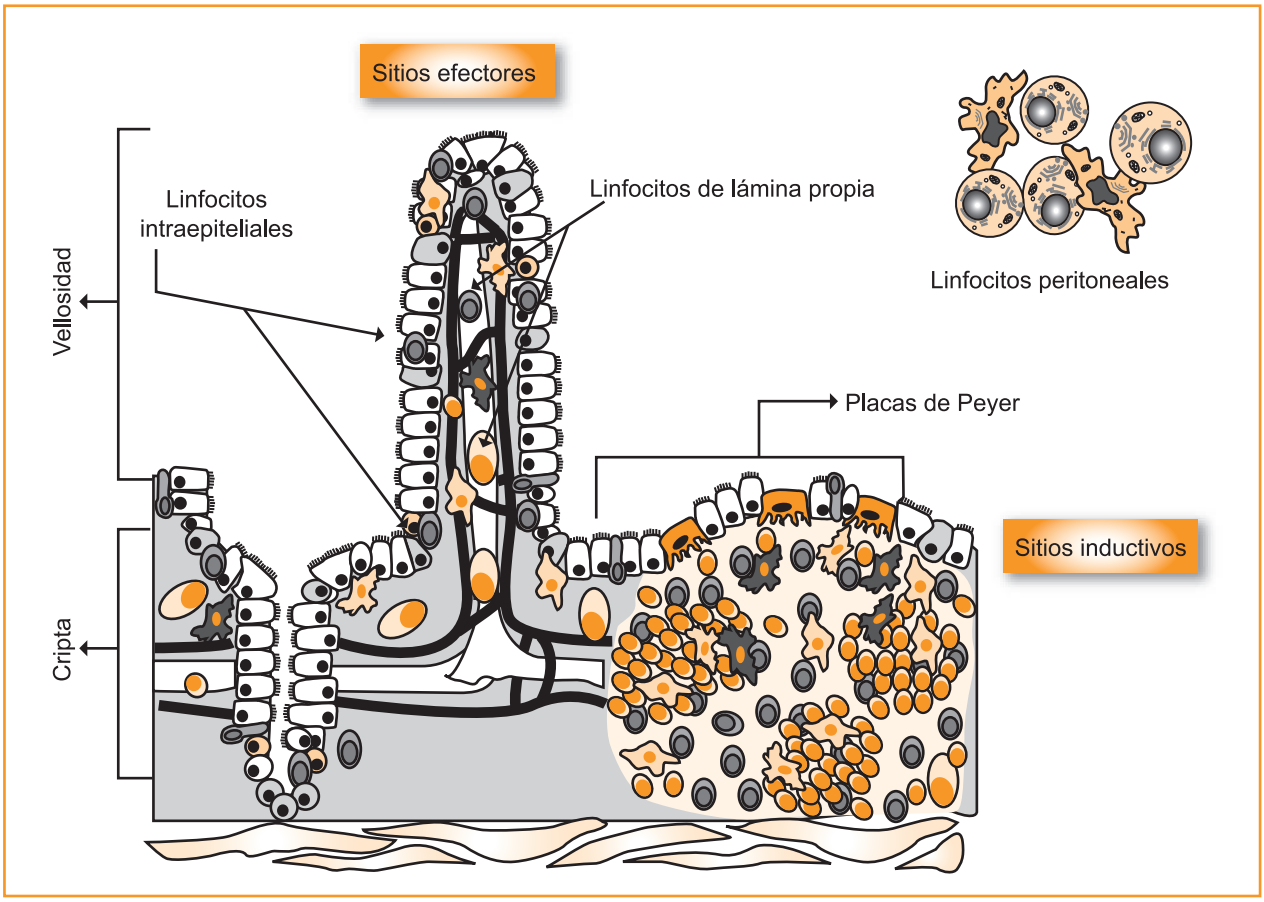


Figura 1. *Principales poblaciones linfocitarias inductivas y efectoras del sistema inmunológico intestinal.*

y T inmaduras localizadas en los centros germinales y en las regiones interfoliculares. Estas células B y T inmaduras, tras ser activadas por un antígeno, son drenadas por los ganglios linfáticos regionales, y migran a través del conducto torácico hasta el torrente circulatorio. Finalmente, tras recircular durante varios días, se diferencian a células efectoras maduras que migran a la lámina propia o a células memoria que migran de nuevo a las placas de Peyer. Hay otra población de células efectoras formada por los linfocitos intraepiteliales, los cuales pueden interaccionar con antígenos que penetran a través del tracto gastrointestinal, sin necesidad de seguir el circuito anterior. La **Figura 2** representa un esquema de este circuito.

El sistema inmunológico intestinal desempeña una tarea adicional con respecto a otras mucosas, ya que tiene que distinguir no sólo entre lo propio y lo no propio, sino también entre antígenos extraños peligrosos y antígenos alimentarios, a los cuales está constantemente expuesto. El sistema inmunológico localizado en el intestino es capaz de generar una rápida y poderosa defensa frente a microorganismos invasores, pero también de generar respuestas supresoras específicas frente a material antigénico no invasivo para evitar reacciones potencialmente dañinas frente a estos antígenos. El mecanismo que asegura este delicado balance no se conoce con exactitud, pero involucra, al menos en parte, la selección cuidadosa de poblaciones linfocitarias apropiadas y la expresión ordenada de citokinas. La mayoría de linfocitos intestinales, especialmente aquéllos localizados en la lámina propia y en el epitelio, tienen un alto grado de diferenciación y maduración, estando sometidos a un pronunciado estado de activación crónica. Además, algunos linfocitos intestinales difieren ontogénicamente de los linfocitos sistémicos. Por ejemplo, algunos linfocitos intraepiteliales maduran directamente en el intestino, y no en el timo,

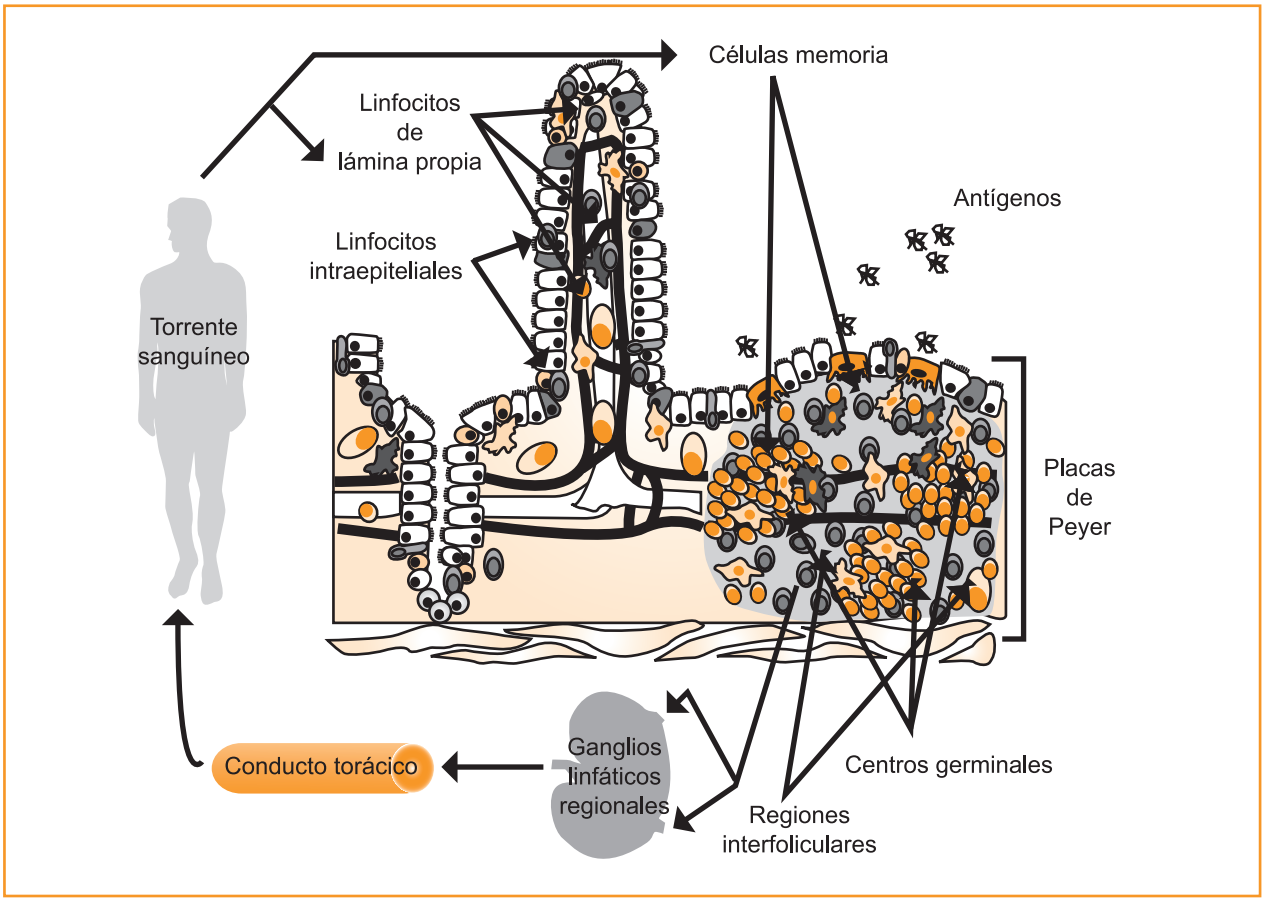


Figura 2. *Esquema del circuito de integración entre la inmunidad intestinal y la inmunidad sistémica.*

y algunas células plasmáticas de la lámina propia derivan de una población precursora de células B localizada en la cavidad peritoneal, y no en la médula ósea. Finalmente, es importante reseñar que, al contrario de lo que ocurre con la inmunidad sistémica, el principal mecanismo de defensa a nivel intestinal viene dado por la producción y secreción de IgA secretora (sIgA) que promueve la exclusión de antígenos presentes en el lumen intestinal. La **Figura 3** representa un esquema de la producción y secreción de IgA a nivel intestinal y de las principales poblaciones linfocitarias involucradas en este mecanismo de defensa.

Todas estas características sugieren que el desarrollo y la expresión del sistema inmunológico regional en el tracto gastrointestinal son relativamente independientes de la inmunidad sistémica. La **Tabla I** muestra las principales características del sistema inmunológico intestinal, que lo hacen diferente del sistémico.

3. Interacciones entre nutrientes y microbiota, y su influencia sobre el sistema inmunológico intestinal

Las interacciones a nivel intestinal o local influencian profundamente la respuesta inmunológica sistémica, en parte debido a diferencias intrínsecas en estos sistemas, y también debido a requerimientos diferentes para una función óptima. La interacción del tracto gastrointestinal con bacterias comensales puede ser vista como un modelo de cómo el sistema ha evolucionado y provee pistas de cómo restaurar el balance en el huésped inmunocomprometido. El balance nutricional es esencial para el desarrollo del sistema inmunológico al nivel de órganos y células. Los nutrientes influencian la defensa del huésped durante la respuesta de fase aguda porque ésta requiere cambios inmediatos, que involucran

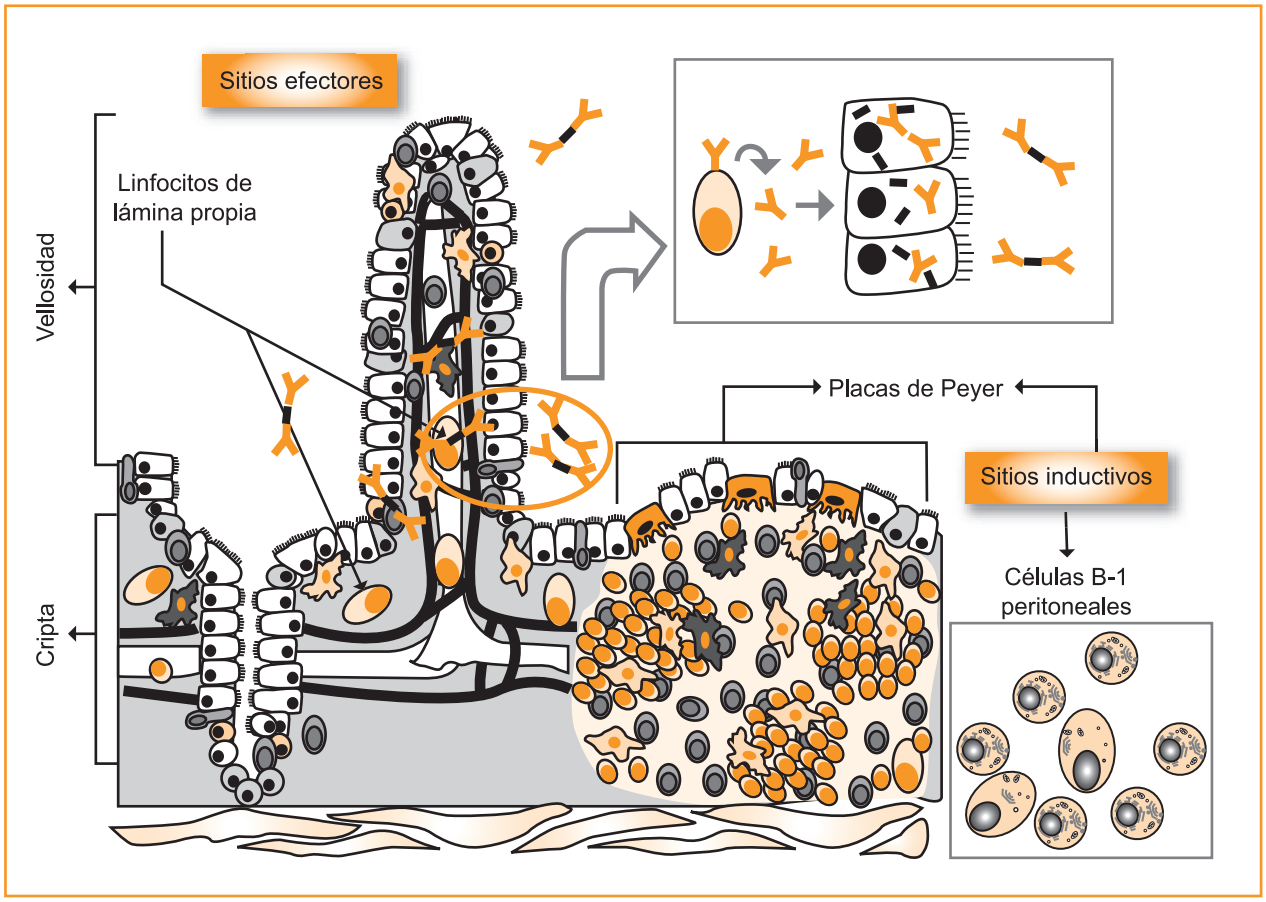


Figura 3. *Esquema de la producción y secreción de IgA a nivel intestinal y de las principales poblaciones linfocitarias involucradas en este mecanismo de defensa.*

activación, proliferación y diferenciación celular. Estos procesos son a su vez dependientes de la producción y secreción de citokinas y factores de crecimiento. Nutrientes específicos también parecen actuar como cofactores críticos en la expresión de la respuesta inmunológica. Además, ya que los microbios afectan directamente a la digestión y actúan como proveedores de nutrientes en el tracto gastrointestinal, estas relaciones están estrechamente unidas de modo interactivo mediando la función del sistema inmunológico del tracto gastrointestinal. La **Figura 4** representa un esquema de las interacciones entre nutrientes, microbiota y el sistema inmunológico intestinal.

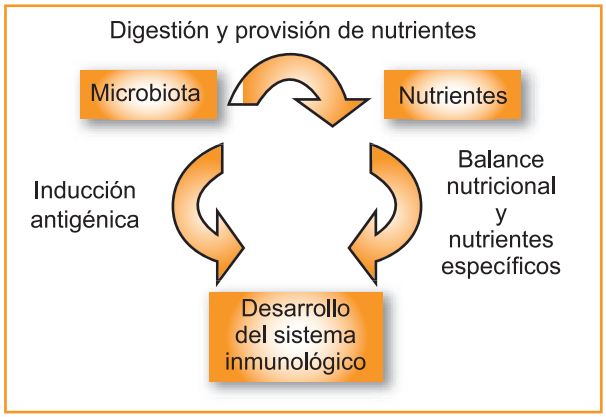


Figura 4. *Esquema de las interacciones entre nutrientes, microbiota y sistema inmunológico intestinal.*

Aunque la respuesta inmunológica frente a la microbiota gastrointestinal es habitualmente defensiva, parece probable que una consecuencia importante de esta interacción es la producción de factores de crecimiento, citokinas y moléculas reguladoras, que controlan selectivamente la función inmunológica regional. Además, el crecimiento intestinal normal puede estar mediado a través de la activación de células T por parte de componentes alimentarios y de flora microbiana. La estimulación de una

Tabla 1. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DEL SISTEMA INMUNOLÓGICO INTESTINAL

- **Sometido a una estimulación constante y masiva por parte de dos tipos principales de antígenos:**
  - Antígenos presentes en la superficie de microorganismos, frente a los cuales tiene que desarrollar una respuesta agresiva
  - Antígenos presentes en alimentos, frente a los cuales tiene que desarrollar una respuesta tolerante
- **Los linfocitos intestinales, especialmente aquellos localizados en la lámina propia y en el epitelio, exhiben un alto grado de maduración y diferenciación, manteniendo de forma usual un estado de activación crónica**
- **Ontogenia diferente:**
  - Una subpoblación importante de linfocitos intraepiteliales son timo-independientes: maduran directamente en el intestino
  - Algunas de las células plasmáticas localizadas en la lámina propia derivan de una subpoblación precursora de células B-1, localizadas en la cavidad peritoneal
- **El principal mecanismo de defensa a nivel intestinal es la secreción de IgA al lumen intestinal para promover la exclusión de antígenos que penetran a través del tracto gastrointestinal**

respuesta inmunológica bacteriana podría representar un medio de restaurar la barrera mucosal. Aunque algunos microorganismos que se encuentran en el tracto gastrointestinal son oportunistas y pueden llegar a ser patogénicos, otros, tales como lactobacilos, promueven el desarrollo de la barrera mucosal a través de la estimulación de la respuesta inmunológica. Además, la adición de lactobacilos a la dieta puede también incrementar directamente la respuesta inmunológica sistémica. En el futuro, podría ser útil usar una combinación de nutrientes y bacterias inmunopotenciadoras selectivas para promover la salud a largo plazo del sistema inmunológico gastrointestinal (*ver Capítulo 4.43*).

Por otro lado, la suplementación de fórmulas infantiles con probióticos ha mostrado tener un efecto beneficioso en la prevención del desarrollo de alergia, especialmente en individuos predispuestos a sufrir este tipo de patología. En esto se basa la llamada hipótesis higiénica. Esta hipótesis se ha desarrollado en los países escandinavos para tratar de explicar el incremento dramático en el número de enfermedades atópicas. En estos países, se han producido durante las últimas décadas cambios en el estilo de vida asociados con mejores condiciones higiénicas. Como consecuencia, en los neonatos hay una menor estimulación antigénica a nivel intestinal con cambios en la microbiota intestinal, lo cual ocasiona un desequilibrio en el mecanismo de tolerancia oral y el desarrollo de enfermedades atópicas. Este aspecto se discutirá detalladamente a lo largo de este Capítulo.

4. Efectos de la desnutrición sobre el sistema inmunológico

Aunque la desnutrición grave constituye la demostración más clara del efecto específico y directo de la nutrición sobre el sistema inmunológico, incluso la desnutrición moderada, si es prolongada, tiene un efecto negativo cuantificable sobre la defensa del huésped. Se ha sugerido que la deficiencia de micronutrientes, la cual ocurre en situaciones diversas, tales como infecciones generalizadas, enfermedad crónica, en el contexto de la administración de nutrición parenteral, o en pacientes pediátricos y geriátricos, es portadora de la clave sobre el mecanismo de acción.

La desnutrición primaria se asocia con atrofia de órganos linfoides y pérdida de función, conduciendo a susceptibilidad frente a patógenos, reactivación de infecciones virales y desarrollo de infecciones oportunistas. En el contexto del intestino, la desnutrición está asociada estrechamente con atrofia de las mucosas y pobre absorción intestinal.

Diversos estudios han demostrado los efectos de la desnutrición sobre la ontogenia del sistema

inmunológico intestinal. Puesto que niños nacidos por debajo del 80% del peso para su edad gestacional, que cursan con infecciones elevadas, tienen también pocas células productoras de inmunoglobulinas y baja cantidad de inmunoglobulinas secretoras, se podría asumir que la ontogenia de la inmunidad de las mucosas está también comprometida en estos niños. El efecto del estado nutricional sobre la ontogenia de la respuesta de IgA de las mucosas ha sido estudiado en un país subdesarrollado, demostrando que los niveles totales de IgA salivar y la respuesta de IgA específica frente a *E. coli* y *H. influenzae* fueron menores en niños que estaban por debajo del 80% del peso para su edad gestacional.

Por otra parte, las anomalías inmunológicas resultantes de desnutrición intrauterina persisten durante varios meses tras el nacimiento, durante un periodo en el que el sistema inmunológico de las mucosas está en su fase máxima de estimulación y maduración. Una de las consecuencias de la nutrición pobre asociada con diarrea frecuente es la deficiencia de vitamina A. En ratas, la deficiencia de vitamina A conduce a una reducción del 90% en la respuesta de sIgA frente a la vacuna oral del cólera.

La desnutrición durante el periodo posnatal temprano puede inhibir un sistema inmunológico de por sí inmaduro y comprometer aún más la resistencia a la infección, reduciendo la disponibilidad de vitaminas esenciales y minerales traza. La desnutrición proteica se asocia a una respuesta de IgA disminuida frente a antígenos orales e infecciones oculares incrementadas asociadas con un descenso en la respuesta ocular de IgA. Incluso dietas temporales inadecuadas, tales como el ayuno durante varios días, pueden tener efectos considerables sobre la función de las mucosas y potencialmente sobre la inmunidad de las mucosas.

Existen mecanismos específicos que podrían explicar parcialmente los efectos de la desnutrición sobre el sistema inmunológico intestinal. Las proteínas de la dieta tienen un efecto directo sobre la IgA mucosal, el componente secretor, el número de células portadoras de IgA y los niveles de IgG. Este efecto no parece estar relacionado con la restricción calórica, ya que la privación proteica por sí sola afecta a la expresión inmunológica intestinal de manera dosis-dependiente y puede ser revertida a través de la realimentación. La supresión de la respuesta de IgG, manteniendo la respuesta de IgA, es fundamental para la inmunidad de las mucosas. El desarrollo de un estado de no respuesta es en realidad un proceso activo. Parece ser que la desnutrición y el ayuno, inducidos experimentalmente a través de infección bacteriana, pueden impedir la respuesta de tolerancia, sugiriendo que el desarrollo de tolerancia podría inhibirse a través de la desnutrición.

La desnutrición también parece ejercer efectos particulares sobre el sistema de células T timodependientes. La desnutrición durante la lactancia causa una alteración en el tejido linfoide asociado a intestino en ratas y un descenso en las células $CD4^+$ $Thy1^+$, indicando un número reducido de células liberadas a partir del timo. También se ha descrito que la restricción crónica de la ingesta energética induce un descenso de la proliferación celular en el epitelio intestinal y en órganos linfoides en ratones con enfermedades autoinmunes. Este efecto de la restricción crónica de la ingesta energética sobre la tasa de proliferación de estas poblaciones celulares que se replican rápidamente puede indicar un mecanismo importante por el que la restricción calórica inhibe el desarrollo de la enfermedad autoinmune. Finalmente, recientemente se ha descrito el papel que juega el sistema neurotransmisor noradrenérgico en la inmunodeficiencia desarrollada durante la desnutrición proteico-energética.

También parece ser importante la influencia de la desnutrición sobre la respuesta inmunológica intestinal a través de la inducción de una respuesta inflamatoria. La respuesta inmunológica de las mucosas inhibida puede compromoter la integridad de la barrera mucosa gastrointestinal, conduciendo a translocación bacteriana e incremento de la absorción de proteínas de la dieta. La deficiencia selectiva de IgA en humanos se asocia con estimulación inmunológica crónica, la cual tiene consecuencias profundas para la defensa del huésped. Cuando la respuesta inmunológica en el tracto gastrointestinal involucra la expresión y la producción de una respuesta inflamatoria, existe riesgo de metabolismo alterado de nutrientes asociado a enteropatía gastrointestinal. Esto podría conducir a desnutrición y como consecuencia a una inhibición adicional de la defensa del huésped. Las infecciones juegan también un papel primordial en el desarrollo de este proceso.

Por otro lado, la dieta puede afectar a la respuesta inmunológica a través de hipersensibilidad mediada inmunológicamente, afectando a la microbiota y secreciones gástricas y a la respuesta inflamatoria. La desnutrición proteica puede inhibir la respuesta inmunológica moderando la respuesta inflamatoria generalizada, más que a través de la reducción de la función de células T y de la síntesis de IgA.

La predisposición al desarrollo de hipersensibilidad intestinal puede ser inducida en animales a través de la alimentación a largo plazo con dietas elementales. La absorción eficiente de estas dietas reduce la carga de microbiota cecal y, conjuntamente con cambios en la secreción ácida gástrica y en la motilidad del intestino delgado, puede afectar a la composición de la microbiota intestinal.

5. Alimentación al pecho *versus* alimentación artificial y el sistema inmunológico

La alimentación al pecho tiene efectos beneficiosos sobre el estado nutricional del lactante, pero también lo protege frente a diversas infecciones y enfermedades relacionadas con la infección. Aunque los mecanismos de protección no son bien conocidos, la modulación de la microbiología, fisiología e inmunología del niño parecen estar involucradas.

Los niños recién nacidos son altamente susceptibles a la infección durante la vida temprana, lo cual es el resultado, en gran medida, del desarrollo retardado de la función inmunológica. El aporte de factores a través de la leche materna puede ser, por tanto, crítico para el niño y podría explicar la incidencia considerablemente menor de enterocolitis necrotizante en niños alimentados al pecho con respecto a niños alimentados con fórmula.

5.1. Componentes de la leche materna y su papel clave

La leche materna contiene diversos componentes que participan directa o indirectamente en la función inmunológica del niño alimentado al pecho. Contiene cantidades considerables de anticuerpos, siendo la sIgA la clase predominante. Los anticuerpos de sIgA presentes en leche humana reconocen una amplia variedad de microorganismos, incluyendo patógenos bacterianos, tales como *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Clostridium difficile*, y *Salmonella*, virus tales como rotavirus, citomegalovirus, HIV, influenza, y virus respiratorio sincitial, así como hongos, tales como *Candida albicans*. Se cree que la especificidad frente a estos anticuerpos es adquirida por la migración antígeno-estimulada de células B presentes en las placas de Peyer en el tracto intestinal, y en el tejido linfoide del tracto respiratorio, hacia la lámina propia de la glándula mamaria a través del ciclo conocido como "enteromamario". El recién nacido, cuyo sistema inmunológico es relativamente inmaduro, gana de este modo protección frente a los mismos patógenos de las mucosas a los cuales la madre es expuesta. Específicamente, la producción de sIgA es baja durante la infancia temprana y, así, los niños alimentados al pecho adquieren estos anticuerpos oralmente y adquieren protección frente a patógenos entéricos y respiratorios, mientras que los niños alimentados con fórmula no lo hacen.

Los anticuerpos antiidiotipo pueden también conferir inmunidad al niño recién nacido. Si estos anticuerpos sobreviven en el tracto gastrointestinal, pueden atraer respuestas de anticuerpos mucosales dirigidas hacia cepas de virus entéricos, tales como poliovirus. El hallazgo de anticuerpos antiidiotipo en calostro y leche madura está de acuerdo con estudios que han mostrado respuestas mejores frente a vacunas en niños alimentados al pecho que en niños alimentados con fórmula, lo cual puede ser el resultado de una exposición adicional de los primeros a anticuerpos antiidiotipo presentes en la leche.

También están presentes leucocitos en leche materna, particularmente en calostro y durante la lactancia temprana. El calostro contiene cantidades considerables de macrófagos y de linfocitos T $CD8^+$. Los macrófagos del calostro podrían funcionar como inmunosupresores y los linfocitos $CD8^+$ podrían también regular de forma negativa las funciones de células T en el niño. La positividad transitoria de la tuberculina, que se puede observar en niños alimentados al pecho nacidos de madres tuberculín-positivas, pero no en niños alimentados

con fórmula o niños alimentados al pecho por madres tuberculín-negativas, constituye una evidencia indirecta de que células T activas son ingeridas a través de la leche materna por parte del recién nacido durante los primeros días de vida. Los neutrófilos predominan entre los leucocitos presentes en leche humana, comprendiendo aproximadamente del 40 al 60% de éstos. Tienen baja motilidad y no responden a quimiokinas, lo cual indica que también pueden estar activados, ya que los neutrófilos activados llegan a ser no respondedores frente a algunas quimiokinas. Aunque se desconoce cuál puede ser la función de los neutrófilos activados en la leche humana, podrían compensar la baja capacidad del recién nacido para reclutar neutrófilos sanguíneos en sitios de inflamación dentro del tracto gastrointestinal.

La lactoferrina, la cual se encuentra en grandes cantidades (1,5 g/l) en leche materna, desempeña un papel importante en la defensa frente a la infección y tiene propiedades inmunotrópicas. Se ha sugerido que la habilidad de la lactoferrina para ligar un exceso de iones Fe, necesarios para el crecimiento de microorganismos y tumores, representa un importante mecanismo de defensa en humanos. Además, la lactoferrina puede contribuir a la protección frente a patógenos y sus metabolitos incrementando la fagocitosis, la adherencia celular y controlando la liberación de citokinas proinflamatorias, tales como IL-1, IL-6 y TNF-α por parte de macrófagos estimulados por productos bacterianos. La lactoferrina disminuye también los efectos dañinos de la liberación de radicales libres y posee interesantes propiedades inmunotrópicas con respecto a células T y B inmaduras, promoviendo la maduración fenotípica y funcional de estas células. Más aún, la lactoferrina controla la fase efectora de la respuesta inmunológica celular e inhibe las manifestaciones de respuesta autoinmune en ratones. También se ha descrito que la lactoferrina bovina induce ambas respuestas inmunológicas, la sistémica y la de las mucosas, incrementando la secreción de IgG e IgA en placas de Peyer y bazo de ratones. Se ha propuesto que la lactoferrina podría actuar como un factor inmunoestimulador sobre el sistema inmunológico de las mucosas y que la activación de este sistema es dependiente de la habilidad de la lactoferrina para fijarse a la mucosa intestinal. La lactoferricina, que es un péptido localizado en el extremo N-terminal de la lactoferrina bovina y humana, ha mostrado potentes efectos bactericidas tanto *in vitro* como *in vivo*.

La lisozima está presente en leche humana en concentraciones inusualmente elevadas (0,1-0,3 g/l), y es una enzima activa. Puede degradar las paredes celulares de bacterias gram-positivas y podría tener efectos sinérgicos con la lactoferrina.

La leche humana contiene cantidades considerablemente altas de oligosacáridos complejos (4-6 g/l), los cuales están prácticamente ausentes en la leche de vaca. Estos oligosacáridos contienen un núcleo de lactosa sustituido con N-acetil-glucosamina, galactosa, fucosa y ácido siálico en varios enlaces y posiciones, dando lugar a un total de más de 100 compuestos diferentes. Las especies predominantes son lacto-N-tetraosa, lacto-N-fucopentaosa, sialil-lactosa, y disialil-lacto-N-tetraosa. Puesto que estos oligosacáridos contienen estructuras que pueden funcionar como ligandos para moléculas de adhesión leucocitaria, es posible que la presencia de tales oligosacáridos en la circulación podría afectar a la expresión de integrinas leucocitarias, permitiendo la migración de leucocitos hacia sitios específicos de lesión e infección. También se ha descrito el papel de oligosacáridos de leche humana previniendo la infección por diferentes microorganismos, tales como *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *V. cholerae*, *E. coli*, *C. jejuni* y rotavirus, actuando como falsos receptores a nivel intestinal.

Otro componente de la leche humana, el factor de crecimiento epidérmico, puede favorecer la maduración de la barrera epitelial intestinal, dando lugar a una captación disminuida de antígenos proteicos extraños en el niño alimentado al pecho y consecuentemente a una disminución en la estimulación inmunológica. Otros componentes de la leche materna, tales como κ-caseína, fragmentos de subunidades de caseína, lactoperoxidasa y poliaminas, han mostrado también tener actividad antimicrobiana y/o inmunoestimuladora *in vitro* e *in vivo*, aunque existe una carencia profunda de estudios en humanos al respecto. Existen otros micronutrientes presentes en la leche humana, tales como nucleótidos y gangliósidos, los cuales han demostrado tener un papel inmunorregulador. Este aspecto se discutirá más adelante. Sin embargo, conviene mencionarlo aquí, ya que, aunque su concentración en leche es relativamente baja, los efectos biológicos que promueven en el intestino neonatal son bastante importantes. También es importante mencionar

Tabla 2. INFLUENCIA DE ALGUNOS COMPONENTES RELEVANTES DE LA LECHE HUMANA SOBRE EL SISTEMA INMUNOLÓGICO

Componente	Función
sgA	• Anticuerpos específicos mucosales frente a diferentes bacterias, hongos y virus
Lactoferrina	• Defiende frente a la infección y posee propiedades inmunotrópicas derivadas de su capacidad de ligar hierro • Controla la fase efectora de la respuesta inmunológica celular • Promueve la respuesta inmunológica sistémica y de las mucosas
Lisozima	• Degrada las paredes celulares de microorganismos gram-positivos y tiene efectos sinérgicos con la lactoferrina
Factor de crecimiento epidérmico	• Favorece la maduración de la barrera epitelial intestinal, dando lugar a un descenso en la incorporación de antígenos
Péptidos de caseína	• Actividad antimicrobiana e inmunoestimuladora *in vivo* e *in vitro*
Lactoperoxidasa	• Actividad antimicrobiana e inmunoestimuladora *in vivo* e *in vitro*
Citokinas	• Modulación del sistema inmunológico en la infancia
Poliaminas	• Actividad antimicrobiana e inmunoestimuladora *in vivo* e *in vitro*
Nucleótidos	• Incrementan la maduración, activación y proliferación linfocitaria • Modifican la distribución de subpoblaciones linfocitarias • Modulan la producción de inmunoglobulinas
Oligosacáridos complejos	• Falsos receptores para bacterias en el intestino • Ligandos que afectan a la expresión de integrinas leucocitarias
Gangliósidos	• Actividad antimicrobiana *in vitro* e *in vivo* • Modulan los procesos de proliferación, activación y diferenciación de linfocitos T

que los nucleótidos han sido incorporados a las fórmulas infantiles en muchos países del mundo. La **Tabla 2** resume el papel de algunos componentes relevantes de la leche humana sobre la inmunidad sistémica y de las mucosas.

5.2. Función inmunológica en niños alimentados al pecho *versus* niños alimentados con fórmula

Diversos estudios han demostrado claramente que la activación basal de linfocitos es mayor en niños alimentados con fórmula que en niños alimentados al pecho, como queda reflejado por una mayor expresión de integrinas y respuesta proliferativa en ausencia de antígeno. Esta activación podría ser el resultado de la exposición de niños alimentados con fórmula a una mayor variedad de proteínas alimentarias. Sin embargo, es altamente improbable que simples antígenos de la dieta puedan dar lugar a una activación linfocitaria tan marcada y persistente. Al menos otras dos posibilidades deberían ser consideradas:

En primer lugar, la presencia de factores antiinflamatorios/antiproliferativos en leche ma-

terna puede disminuir la activación del sistema inmunológico del niño alimentado al pecho.

En segundo lugar, el niño alimentado con fórmula podría tener una microbiota intestinal más variada y estar expuesto a una variedad mayor de productos bacterianos capaces de estimular el sistema inmunológico. Estas dos posibilidades no son, por supuesto, mutuamente excluyentes.

La leche materna también contiene citokinas que podrían modular el sistema inmunológico del lactante. Experimentos con animales han mostrado que las citokinas sobreviven y retienen su actividad biológica durante el trayecto a través del tracto gastrointestinal, y que pueden incluso ser transportadas al interior del torrente circulatorio y afectar a las funciones inmunológicas. Cantidades significativas de ambos tipos de citokinas, proinflamatorias (IL-1, TNF-α) y antiinflamatorias (TGF-β, IL-10), están presentes en la leche humana. TGF-β e IL-10 ejercen profundos efectos contrarreguladores sobre la proliferación linfocitaria, del mismo modo que la prostaglandina E_2, la cual es también producida por macrófagos de leche humana. La leche humana también contiene receptores solubles para citokinas/quimiokinas y antagonistas para receptores, los cuales podrían contribuir a sus propiedades antiinflamatorias. Otras citokinas están involucradas en la maduración y diferenciación de células B. El TGF-β puede causar el cambio isotípico hacia células B IgA^+ y la IL-6 puede promover la síntesis de IgA e IgM, así como la diferenciación terminal de células IgA^+ hacia células plasmáticas productoras de IgA. Todos estos agentes inmunomoduladores ayudan a promover partes del sistema inmunológico del niño que no se han desarrollado totalmente y ayudan en la respuesta adecuada frente a los estímulos del sistema.

Se ha demostrado igualmente que la alimentación al pecho incrementa la respuesta de anticuerpos secretores frente a vacunas orales y parenterales. Así, los niños con lactancia materna tienen respuestas mayores de sIgA frente al toxoide tetánico y polio en saliva y heces que niños con lactancia artificial. La respuesta incrementada frente a vacunas se observa aún en niños mayores que fueron alimentados al pecho. Además, los niños con lactancia materna han mostrado tener protección a largo plazo frente a la infección por *H. influenzae*.

Un interrogante que permanece sin aclarar es el impacto del estado nutricional sobre las respuestas inmunológicas específicas que se desarrollan tras un proceso de inmunización. Sin embargo, dado el efecto potencial de la nutrición sobre las respuestas inmunológicas, incluyendo las respuestas a vacunas, se ha prestado alguna consideración al uso de nutrientes particulares como potenciales "adyuvantes" para la respuesta inmunológica cuando se realiza la inmunización. En diversos ensayos se ha probado un suplemento proteico o vitamina A dados conjuntamente con una vacuna en un intento de incrementar la respuesta inmunológica. De hecho, se ha proclamado el uso de vitamina A oral como la "séptima" inmunización en el esquema de seis vacunas del Programa Expandido de Inmunización. De igual modo, un estudio reciente ha demostrado que la suplementación de una fórmula infantil con nucleótidos casi duplicó la respuesta frente al polisacárido tipo B de *H. influenzae* en niños que habían recibido la vacuna Hib-conjugada, y la inmunización frente a difteria, toxoides tetánicos y virus de la polio podrían constituir otro ejemplo del concepto mencionado anteriormente.

La inducción de tolerancia oral, por la transferencia de inmunocitos en la leche humana, puede también explicar el efecto protector a largo plazo de la lactancia materna sobre el riesgo disminuido de desarrollar diabetes tipo 1, dermatitis atópica, linfomas y enfermedad de Crohn, así como la supervivencia incrementada en los trasplantes renales maternos. Estos hallazgos sugieren que la manipulación inicial de antígenos por parte del sistema inmunológico de las mucosas en el intestino es crítica en el desarrollo de una inmunidad efectiva y de las consecuentes respuestas inmunológicas. El efecto modificador de la leche humana es importante no sólo para determinar inmunidad protectora, sino también para reducir respuestas inmunológicas adversas que conducen a atopia y a desórdenes autoinmunes y linfoproliferativos.

Se ha demostrado recientemente que el consumo de leche de vaca, en particular el uso extendido de fórmulas infantiles basadas en leche de vaca, podría significar un factor de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus insulina dependiente (tipo 1). De hecho, diversos estudios epidemiológicos han concluido que la introducción de una fórmula infantil basada en leche de vaca antes de la edad de 3 meses se asocia con un riesgo incrementado de desarrollar diabetes tipo 1 a lo largo de la vida. Sin embargo, es importante destacar que en estas asociaciones no se ha demostrado una relación causa-

efecto. Parece ser que no únicamente la leche de vaca, sino que también otras muchas fuentes de proteínas complejas podrían ser diabetogénicas, tal y como se deduce de algunos estudios animales y epidemiológicos. Entre los factores críticos a considerar, están el estado inmunorregulador del intestino y si el encuentro con antígenos de la dieta conduce a una respuesta de tolerancia oral o hacia sensibilización y posible pérdida de autotolerancia frente a epítopos con reacción cruzada.

El papel de la duración de la lactancia materna y/o la supresión de fórmulas basadas en leche de vaca durante la infancia temprana en el desarrollo de enfermedad atópica ha sido sujeto de considerable controversia durante los últimos años. Este aspecto se discutirá más adelante a lo largo de este Capítulo.

Finalmente, es importante enfatizar que existen profundos cambios temporales de la actividad inmunológica durante la infancia. Está suprimida durante la lactancia, se activa con el destete, y posteriormente sufre una regulación negativa intrínseca tras el destete. El factor de crecimiento transformante β (TGF-β) presente en leche materna puede mediar este efecto inmunosupresor. El sistema inmunológico sistémico del neonato puede ser sometido a una respuesta inmunológica Th2 preponderante frente a Th1, mientras que el sistema inmunológico de las mucosas, particularmente el del tracto gastrointestinal, es regulado positivamente con una inflamación fisiológica durante la infancia. El destete se asocia con un pico de la activación inmunológica intestinal que incluye mastocitos y células T mucosales. Los efectos fisiológicos de esta activación son la promoción del crecimiento epitelial del intestino delgado y la activación inicial de mecanismos conducentes a la regulación negativa posterior de la actividad inmunológica fisiológicamente incrementada. Esto coincide con el desarrollo de la tolerancia oral mucosal hacia antígenos alimentarios y bacterianos.

6. Influencia de nutrientes específicos sobre el sistema inmunológico

6.1. Nitrógeno proteico

Las proteínas de la dieta son importantes para el mantenimiento de la inmunidad y también influencian la respuesta frente a la infección a través de varios mecanismos. Un mecanismo es el mantenimiento de la función de barrera intestinal, a través de la provisión de treonina, cisteína, y otros amino ácidos involucrados en la síntesis de glicoproteínas del mucus. Otro es el mantenimiento de la inmunocompetencia general a través de la provisión de amino ácidos específicos para la síntesis de proteínas celulares del sistema inmunológico. En particular, el glutatión, un eliminador clave de radicales libres, sintetizado a partir de glutamato (glutamina), glicina y cisteína, se encuentra disminuido en la mucosa intestinal de animales sometidos a restricción proteica. El efecto principal de la suplementación proteica es incrementar la tasa de adquisición de inmunidad y aumentar la resistencia a la infección, y esto se ha asociado a una respuesta inmunológica celular elevada en la mucosa gastrointestinal.

Otro posible factor es también la influencia de la ingesta proteica sobre los niveles de glutamina. La glutamina se concentra en elevadas proporciones en el músculo esquelético y parece jugar un papel específico en el mantenimiento de células que proliferan rápidamente, tales como linfocitos y enterocitos. Bajo condiciones de infección y trauma, las concentraciones musculares de glutamina caen, y esto puede limitar la provisión de glutamina para el sistema inmunológico o para el lecho esplácnico, donde parece jugar un papel específico en el mantenimiento de la síntesis de glutatión durante el trauma. Se ha descrito el efecto positivo de L-glutamina y glicil-L-glutamina sobre la prevención de la atrofia del GALT en el intestino delgado, inducida por la administración intravenosa de nutrición parenteral total. La administración de nutrición parenteral total conlleva atrofia del GALT y disminución de los niveles de IgA en el intestino delgado; sin embargo, la suplementación isonitrogenada de nutrición parenteral total con 2% de glutamina o de glicil-L-glutamina atenúa estos cambios. De igual modo, también se ha descrito recientemente la capacidad inmunomoduladora de la glutamina, mejorando la situación inmunológica del intestino en condiciones de endotoxemia. La suplementación de la dieta con glutamina (3 g/100 kcal) inducía un incremento de las subpoblaciones de células B y T-CD4$^+$ en placas de Peyer de ratones endotoxémicos (*ver Capítulo 1.15*).

La provisión de arginina es también importante en relación con el sistema inmunológico. Esto pue-

de estar relacionado con su papel como precursor de la síntesis de óxido nítrico, un regulador clave de una variedad de procesos fisiológicos que incluyen la regulación de la función asesina de macrófagos, interacciones entre macrófagos, y la adhesión y activación linfocitaria. La taurina, un β-amino ácido sulfónico derivado de la cisteína, parece ser un eliminador efectivo de productos de peroxidación, y también se ha relacionado con un papel en la inmunomodulación del GALT, especialmente durante el desarrollo posnatal (*ver Capítulo 1.15*).

6.2. Nitrógeno no proteico

Dentro de los componentes del nitrógeno no proteico, los nucleótidos han demostrado claramente jugar un papel inmunorregulador. Los nucleótidos son componentes normales de la dieta desde el nacimiento en adelante. Aunque una dieta con ausencia de nucleótidos no se ha relacionado con ninguna enfermedad deficitaria en particular, se han descrito los beneficios derivados del uso de nucleótidos en alimentación infantil y parenteral sobre el metabolismo lipídico, inmunidad y regeneración hepática e intestinal (*ver Capítulo 1.16*).

Los tejidos que proliferan rápidamente, tales como el sistema inmunológico o la mucosa intestinal, no son capaces de soportar totalmente las necesidades de requerimientos de nucleótidos celulares exclusivamente a través de la síntesis *de novo* y, por ello, utilizan preferentemente la vía de recuperación, recuperando nucleósidos y nucleobases procedentes de sangre y de la dieta. Un suplemento exógeno de estos compuestos a través de la dieta puede ser esencial para sostener el crecimiento y mantener la función celular en estos tejidos.

Los nucleótidos han sido involucrados en diferentes aspectos de la respuesta inmunológica sistémica, tales como la maduración, activación y proliferación linfocitaria, modificación de las subpoblaciones linfocitarias, actividad fagocítica de los macrófagos, hipersensibilidad retardada, respuesta a injertos y tumores y modulación de la producción de inmunoglobulinas. De igual modo, se cree que los nucleótidos están involucrados en la defensa frente a la infección. Uno de los mecanismos por los cuales los nucleótidos disminuyen la incidencia de infecciones es la modulación de la microbiota intestinal. Sin embargo, debe tenerse en cuenta también la acción específica de los nucleótidos estimulando el sistema inmunológico a nivel intestinal. Este efecto derivado de los nucleótidos viene soportado por estudios clínicos recientes, describiendo una menor incidencia de diarrea aguda en niños alimentados con fórmulas suplementadas con nucleótidos en países, tanto en vías de desarrollo como desarrollados.

Respecto al posible mecanismo de acción de los nucleótidos de la dieta, se ha propuesto que éstos ejercen sus efectos sobre la función inmunológica celular actuando sobre la población de células T colaboradoras/inductoras, con efecto predominante en la fase inicial del procesado de antígeno y proliferación linfocitaria. Datos clínicos recientes sugieren que los nucleótidos incrementan la maduración de células inmunológicas en niños elevando la población de células T memoria/efectoras, mientras disminuyen la población de células T nativas. Además, los nucleótidos exógenos pueden modular la producción de anticuerpos mediada por células T-colaboradoras (Th). Más aún, se ha sugerido que los nucleótidos de la dieta pueden favorecer el balance de diferenciación de células T hacia células Th1 o Th2. Algunos trabajos sugieren que pueden afectar a ambas poblaciones de células Th, mientras que otros sugieren que favorecen preferentemente la respuesta Th1.

Los mecanismos moleculares a través de los cuales los nucleótidos modulan el sistema inmunológico son virtualmente desconocidos. Se ha sugerido que el intestino delgado juega un papel fundamental en los efectos reguladores de los nucleótidos sobre la respuesta inmunológica. Diversos estudios han demostrado que los enterocitos pueden funcionar como células presentadoras de antígeno, y que son capaces de producir citokinas, las cuales modulan los procesos de activación, proliferación y diferenciación linfocitaria. Se ha demostrado que los nucleótidos de la dieta incrementan la expresión de ambos, genes y proteínas, de IL-6 e IL-8, en explantes de intestino delgado fetal estimulados con IL-1β, de forma dosis-dependiente.

De igual modo, recientemente se ha descrito que los nucleótidos de la dieta modifican las subpoblaciones de linfocitos intestinales en ratones al destete. En este trabajo se observó que los cambios asociados al desarrollo en la expresión de la mayoría de los antígenos de las poblaciones

linfocitarias analizadas se anticipaban en los animales alimentados con una dieta suplementada con nucleótidos, indicando que los nucleótidos de la dieta pueden afectar a la maduración de linfocitos intestinales y, consecuentemente, al desarrollo de la función inmunológica intestinal. Los cambios más significativos encontrados fueron que los nucleótidos incrementaban la expresión de CD22 (un marcador típico de células B) por parte de PPL y la expresión de CD5 por parte de LPL. Es importante resaltar que CD5 es expresado por parte de células B-1, las cuales son precursoras de parte de las células plasmáticas intestinales productoras de IgA y sistémicas productoras de IgA e IgM, lo cual sugiere que la modulación de células B-1 podría ser uno de los mecanismos por los que los nucleótidos promueven la producción de inmunoglobulinas. Por otro lado, también se ha demostrado que los nucleótidos modulan la producción a nivel intestinal de citokinas, tales como IL-2 e IL-6, que están involucradas en la diferenciación de células B intestinales hacia células plasmáticas que sintetizan y secretan IgA.

La **Figura 5** describe los mecanismos potenciales por los cuales los nucleótidos de la dieta podrían modular la producción de inmunoglobulinas, probablemente el parámetro inmunológico con más relevancia en cuanto a su traducción clínica para el humano se refiere.

6.3. Lípidos

La composición de ácidos grasos de las membranas celulares, incluyendo las de linfocitos, pueden modificarse a través de la manipulación de los ácidos grasos de la dieta y, como resultado, los lípidos de la dieta pueden jugar un papel importante en la respuesta inmunológica.

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI n-6 y n-3) están involucrados en la regulación de la respuesta inflamatoria. Estudios experimentales y clínicos han demostrado que la respuesta inmunológica puede ser modulada a través de la intervención nutricional, principalmente con suplementos de AGPI n-3. Las alteraciones incluyen cambios en la producción de mediadores inmunológicos y la proliferación linfocitaria en respuesta a mitógenos. Datos de estudios *in vivo* e *in vitro* indican que la proliferación linfocitaria se reduce en respuesta a niveles relativamente altos de AGPI n-3. Sin embargo, otros estudios muestran que la alimentación con cantidades moderadas de AGPI no es inmunosupresora, sino que, por el contrario, puede incluso potenciar la respuesta inmunológica. Por ejemplo, se ha descrito que el ácido docosahexanoico (DHA) incrementa los niveles de células T memoria/efectoras en niños pretérmino. Los AGPI n-3 pueden inhibir también la proliferación de líneas celulares monocíticas y la función presentadora de antígeno en células humanas *in vitro*. La suplementación de la dieta con AGPI n-3 inhibe la intensidad de expresión de antígenos de histocompatibilidad (MHC) de clase II en monocitos humanos, ilustrando un mecanismo potencial por el que los AGPI n-3 podrían suprimir las respuestas mediadas por células. También reducen la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1 y LFA-1) y de hecho afectan al movimiento de linfocitos y monocitos entre compartimentos corporales y, quizás, hacia áreas de actividad inflamatoria.

Muchos de los efectos del AGPI n-3 sobre el sistema inmunológico están mediados por cambios en la producción de eicosanoides. La suplementación de la dieta con AGPI n-3 da lugar a la formación del leucotrieno (LT) B_5, biológicamente menos activo, a expensas del proinflamatorio LTB_4. Igualmente, la suplementación de la dieta con AGPI n-3 disminuye la producción de prostaglandina (PG) E_2. La PGE_2 inhibe la producción de los mediadores proinflamatorios IL-1 y TNF-α por parte de macrófagos, la producción de IL-2 y la proliferación linfocitaria, y modula la expresión de receptores para antígenos MHC de clase II por parte de macrófagos. También se ha descrito recientemente que los metabolitos del ácido araquidónico dependientes de la ciclooxigenasa-2 son moduladores esenciales de la respuesta inmunológica intestinal frente a antígenos de la dieta. Específicamente, se ha demostrado que las células mononucleares de la lámina propia pueden influenciar la respuesta inmunológica frente a antígenos ingeridos no patogénicos a través del metabolismo del ácido araquidónico por un mecanismo dependiente de la ciclooxigenasa-2. Esta vía reguladora intestinal representa un mecanismo esencial para mantener la homeostasis inmunológica intestinal, mientras que alteraciones inducidas por enfermedades o drogas en la producción de metabolitos del ácido araquidónico dependientes de la ciclooxigenasa-2 podrían tener efectos adversos en

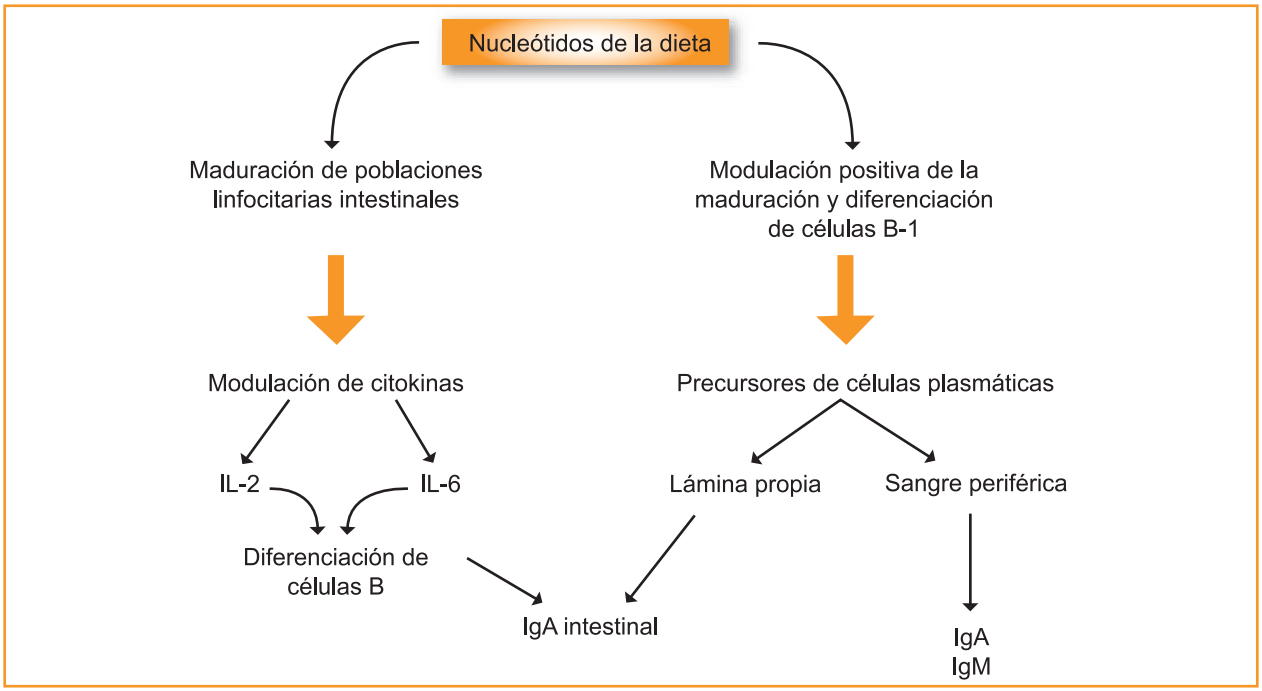


Figura 5. *Mecanismos potenciales por los cuales los nucleótidos de la dieta podrían modular la producción de inmunoglobulinas.*

el desarrollo de la respuesta inmunológica frente a antígenos del lumen intestinal.

Diversos estudios han mostrado que los AGPI n-3 pueden inhibir directamente la síntesis de citokinas proinflamatorias, tales como IL-1 y TNF-α por parte de células mononucleares humanas, independientemente de la regulación a través de eicosanoides. La producción de IL-2 por parte de células mononucleares estimuladas de sangre periférica está también disminuida en humanos que reciben una suplementación con AGPI n-3, siendo uno de los mecanismos potenciales involucrados la supresión de la síntesis de IL-2 a nivel transcripcional.

Las propiedades moduladoras de los AGPI n-3 sobre la función de células inmunológicas, sobre la adhesión y la producción de eicosanoides y de citokinas han permitido su aplicación terapéutica en el tratamiento de diversas enfermedades inflamatorias, incluyendo la enfermedad inflamatoria intestinal o la caquexia de los pacientes con cáncer.

6.4. Hidratos de carbono

Existen pocos estudios acerca del efecto específico de hidratos de carbono sobre el sistema inmunológico intestinal. La mayoría se refieren a los efectos de diferentes tipos de fibra y, casi todos ellos, mencionan la interacción con la microbiota intestinal como potencial mecanismo de acción. De hecho, este efecto específico ha sido descrito como ecoinmunonutrición, en lugar de como inmunonutrición. El efecto específico de la fibra sobre el sistema inmunológico intestinal ha sido claramente demostrado en experimentos con ratas alimentadas con dietas elementales parenterales y enterales. Ambos tipos de dietas inducen translocación bacteriana e inhiben la función inmunológica sistémica e intestinal.

En estos experimentos, la suplementación con fibra se ha mostrado efectiva, reduciendo la translocación bacteriana inducida por dietas elementales y previniendo significativamente la inhibición de la función linfocitaria inducida por la dieta. Por otro lado, se ha demostrado que la administración oral de sacáridos no digeribles y altamente fermentables promueve la secreción de IgA en la mucosa cecal, mientras que los sacáridos no digeribles o poco fermentables reducen las respuestas de IgA en el tracto intestinal. Recientemente, también se ha descrito el efecto positivo de los FOS sobre la producción de IgA intestinal en ratones.

Los oligosacáridos también actúan como inmunomoduladores a nivel intestinal. Esta acción puede derivar de su papel como prebióticos, los cuales son capaces de modificar la microbiota intestinal. Se define como prebiótico un ingrediente alimentario no digerible que afecta beneficiosamente al huésped a través de la estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de una o de un número limitado de bacterias en el colon. Sin embargo, estudios recientes también sugieren que los oligosacáridos de la leche humana podrían modular directamente el sistema inmunológico. Así, se ha demostrado que inhiben la adhesión de neutrófilos a células endoteliales vasculares estimuladas, de una manera dosis-dependiente. Por otro lado, la lacto-N-neotetraosa, la cual está presente en la leche humana, expande la población celular secretora de citokinas antiinflamatorias e inhibe la proliferación de células nativas $CD4^+$. Estos resultados sugieren que la leche humana dispone de un mecanismo ligando-específico involucrado en la generación de mediadores antiinflamatorios que suprimen las respuestas tipo Th1 e inflamatorias.

Dentro del contexto de los prebióticos, es importante mencionar el papel de los gangliósidos. Estos compuestos pueden ser clasificados como lípidos o hidratos de carbono, ya que ambos forman parte de su molécula. Los gangliósidos son glicoesfingolípidos formados por una ceramida hidrofóbica y una cadena hidrofílica de oligosacáridos que portan uno o más residuos de ácido siálico además de varios azúcares: glucosa, galactosa, N-acetilglucosamina y N-acetilgalactosamina. Aunque los gangliósidos fueron detectados inicialmente en el cerebro es posible encontrarlos en casi todos los tejidos y fluidos corporales en los vertebrados.

Los gangliósidos de la leche están casi exclusivamente asociados a la membrana del glóbulo graso. La leche humana y bovina tienen un contenido y distribución de gangliósidos diferentes. Teniendo en cuenta el papel potencial de los gangliósidos de la leche humana, la suplementación de fórmulas infantiles con estas moléculas podría influenciar la fisiología neonatal.

El papel de los gangliósidos en la leche humana no está bien establecido. Se ha detectado una concentración elevada de GD_3 en tejidos en desarrollo, así como en calostro humano, y este hecho podría reflejar un papel biológico en el desarrollo de órganos tales como el intestino en el neonato. La leche humana contiene también cantidades significativas de gangliósidos altamente polares. Se ha sugerido que gangliósidos complejos presentes en tejidos en desarrollo actúan como mediadores de interacciones específicas por contacto celular durante los estadios tempranos del desarrollo de los mamíferos. De este modo, los gangliósidos complejos de la leche humana podrían jugar un importante papel en la glándula mamaria o en los tejidos en desarrollo del lactante, particularmente el intestino delgado, durante la vida temprana.

Se ha descrito que la adición de gangliósidos a una fórmula infantil, a una concentración similar a la presente en leche humana, modifica la composición microbiana de heces en niños recién nacidos pretérmino. Los niveles de *E. coli* en niños pretérmino alimentados con la fórmula suplementada con gangliósidos eran menores que en los niños alimentados con la fórmula estándar, durante el primer mes de vida; por el contrario, los niveles fecales de bifidobacterias eran mayores en el grupo de niños que recibieron la fórmula con gangliósidos, especialmente a los 30 días de vida posnatal.

Por otro lado, los gangliósidos $GD_{1\alpha}$ y GD_1 han sido descritos como marcadores de diferenciación para las subpoblaciones linfocitarias Th2 y Th1, respectivamente. Diferentes estudios sugieren que los gangliósidos podrían estar involucrados en la activación de células T y en la diferenciación de diversas subpoblaciones linfocitarias. Puesto que el GD_3 es uno de los gangliósidos más importantes de la leche humana, y se ha demostrado recientemente que está implicado en la activación de linfocitos T, la suplementación de fórmulas infantiles con este gangliósido podría contribuir sustancialmente al proceso de proliferación, activación y diferenciación de células inmunológicas intestinales en el neonato.

Finalmente, es importante destacar que los gangliósidos de la dieta incrementan el número de células intestinales secretoras de IgA en ratones al destete, así como los porcentajes de células secretoras de citokinas tipo 1 y tipo 2 en lámina propia y placas de Peyer. Asimismo, se ha demostrado, también en ratones al destete, que los gangliósidos de la dieta son capaces de modular la proliferación de linfocitos intestinales. El GD_3, el cual predomina en tejidos en desarrollo y en el calostro humano, estimula la proliferación de todas las poblaciones linfocitarias intestinales, mientras que el GM_3, el

Tabla 3. PRINCIPALES FUNCIONES DE LOS GANGLIÓSIDOS DE LA DIETA

- **Modulan la microbiota intestinal durante el primer mes de vida:**
  - Reducen los niveles fecales de *Escherichia coli*
  - Incrementan los niveles fecales de bifidobacterias
- **Estimulan la respuesta inmunológica mediada por IgA:**
  - Incrementan el número de células intestinales secretoras de IgA
  - Incrementan el contenido total de IgA a nivel intestinal
- **Promueven la secreción de algunas citokinas tipo 1 y tipo 2 por parte de linfocitos de lámina propia y de placas de Peyer**
- **Modulan selectivamente la proliferación de distintas poblaciones linfocitarias intestinales**

cual es el principal ganglósido individual en tejidos maduros y leche humana madura, ejerce efectos diferenciales sobre distintas poblaciones linfocitarias intestinales.

La Tabla 3 resume los principales efectos biológicos derivados de los gangliósidos de la dieta.

6.5. Otros compuestos

Dentro de este apartado, se describen los efectos específicos derivados de diversos minerales y vitaminas.

6.5.1. Minerales

El **hierro** ha sido considerado tradicionalmente como un modulador importante de la inmunidad. Dos observaciones soportan el concepto de inmunidad nutricional con respecto al hierro. La primera es el descenso en los niveles circulantes de hierro durante las infecciones agudas, ya que el hierro es rápidamente captado de los depósitos tisulares, y la segunda es la aparente susceptibilidad incrementada a la infección observada en pacientes con síndromes de sobrecarga de hierro, que sugiere que el exceso de este elemento promueve la infección. La habilidad de microorganismos para adquirir hierro bajo condiciones adversas de disponibilidad del mismo y la presencia de niveles bajos de hierro como una señal para liberar factores de virulencia microbiana plantean serios interrogantes acerca de cómo la hipoferremia mediada por infección afecta a la función inmunológica (*ver Capítulo 1.28*).

El hierro es requerido para la síntesis de DNA, la cual, a su vez, es obligatoria para la proliferación de linfocitos involucrados en las respuestas inmunológicas. Así, la deficiencia de hierro puede conducir a la inhibición de la proliferación linfocitaria. Un mecanismo de defensa hierro-dependiente, la metaloenzima férrica presente en neutrófilos, mieloperoxidasa, está claramente inhibida en estados de deficiencia de hierro.

Por otro lado, el exceso de hierro se asocia con inhibición de la respuesta inmunológica, incluyendo, por ejemplo, disminución de la producción de superóxido y peróxido de hidrógeno, disminución de la reducción por azul de tetrazolio, y reducción de la actividad bactericida. Estos defectos son probablemente debidos a reacciones oxidativas y peroxidativas que dañan la membrana, asociadas al exceso de hierro.

El **zinc** es otro de los minerales que han sido involucrados en la modulación de la respuesta inmunológica. La disminución de zinc típica de las infecciones es parte de la respuesta de fase aguda mediada por citokinas, tales como IL-1, la cual induce la síntesis de la proteína intracelular fijadora de zinc, metalotionina. El papel fisiológico de esta transferencia aguda de zinc desde el espacio extracelular al compartimento intracelular no está claro, pero podría estar relacionado con la dependencia de la transcripción de DNA y traslación de RNA de las metaloenzimas de zinc. Debido a esto, la transferencia de zinc al compartimento intracelular de linfocitos podría ayudar a incrementar la eficiencia proliferativa de linfocitos involucrados en la respuesta inmunológica a infecciones y, de este modo, mejorar la defensa del huésped. Por

otro lado, podría esperarse que la deficiencia de zinc disminuya la respuesta linfocitaria e inhiba la defensa del huésped.

El zinc también juega un papel regulando la activación de genes de fase aguda, debido a su habilidad para ligarse a los llamados "dedos de zinc", involucrados en la estabilización conformacional de proteínas de factores de transcripción que permiten el reconocimiento de secuencias específicas de DNA y la expresión de genes. Si la deficiencia de zinc bloquea estas señales reguladoras, las respuestas del huésped pueden alterarse ya que la traducción de genes normalmente activados durante la reacción de fase aguda se encuentra inhibida. Otro papel esencial del zinc en la respuesta inmunológica está relacionado con su fijación a ciertos péptidos derivados del timo que parecen funcionar como hormonas en la diferenciación de células T y, cualquiera que sea el mecanismo, la deficiencia de zinc conduce a la depresión de las respuestas de hipersensibilidad retardada. Además, el status de zinc puede afectar a la producción y/o fijación a membranas de ciertas citokinas reguladoras de las respuestas inmunológicas, incluidas IL-1, IL-2 e IFN-γ.

La asociación de la deficiencia de zinc con una morbilidad infectiva incrementada se explica, en parte, por la dependencia reconocida de la función inmunológica normal de una adecuada disponibilidad de zinc. De igual modo, recientemente ha cobrado interés la posibilidad de usar suplementos de zinc para reducir la incidencia o severidad de infecciones en niños desnutridos. Aunque, al igual que para el hierro, existen pocos estudios acerca de los efectos específicos del zinc sobre el sistema inmunológico intestinal, recientemente se ha descrito que el zinc tiene propiedades antianafilácticas y antisecretoras que pueden contribuir a su capacidad para prevenir la disfunción intestinal durante la desnutrición (*ver Capítulo 1.29*).

El **selenio** juega también su papel en la respuesta del organismo frente a la infección y contribuye a la integridad del sistema inmunológico. En niños con síndrome de Down, por ejemplo, que son bastante propensos a infecciones bacterianas, la suplementación con selenio aumenta los niveles de IgG_2 sérica. La suplementación con selenio también puede ayudar a prevenir la inmunosupresión asociada a la vejez. La inmunocompetencia disminuida en pacientes que padecen *kwashiorkor* puede estar relacionada con bajos niveles de selenio sérico.

También se ha descrito recientemente que en infecciones por nematodos, el incremento observado en las respuestas inmunológicas, en los anticuerpos intestinales y en el número de granulocitos y proliferación *in vitro* de linfocitos específicos frente a gusanos, se asocia con ingesta de **molibdeno**.

La deficiencia de **cobre** reduce la producción de anticuerpos, la actividad fagocítica, la cadena respiratoria de neutrófilos, la proliferación de células T y la producción de IL-2, incrementando el número de células B. Además, el cobre está involucrado en la función del complemento, y en mantener la integridad de la membrana celular, la actividad superóxido dismutasa Cu-Zn dependiente y la estructura de inmunoglobulinas (*ver Capítulo 1.29*).

La deficiencia de **magnesio** conduce a un incremento de la celularidad tímica, de eosinófilos y de los niveles de IL-1, IL-6, TNF-α, e histamina. Además, se relaciona con la producción de proteínas de fase aguda y actividad del complemento e influencia la citotoxicidad de linfocitos a través de interacciones con ATP y moléculas de adhesión.

6.5.2. Vitaminas

Varias vitaminas han sido relacionadas con la respuesta inmunológica. Aunque estudios en animales han demostrado ampliamente la necesidad de vitamina A para la respuesta inmunológica, la acción molecular de los retinoides aún se desconoce. Parece ser que algunos carotenoides funcionan directamente como moduladores de la función inmunológica, y quizás adicionalmente como precursores de **vitamina A**. También se ha descrito la participación de la vitamina A y sus compuestos retinoides en la modulación del sistema inmunológico intestinal.

La deficiencia de **vitamina E** inhibe las respuestas inmunológicas, mientras que la suplementación de la dieta con niveles superiores a los recomendados potencia la inmunidad humoral y célulo-mediada e incrementa la eficiencia de fagocitos. Los requerimientos de vitamina E para una respuesta inmunológica óptima parecen ser varias veces superiores a los necesarios para prevenir la deficiencia de vitamina E. El mecanismo del efecto inmunoestimulador de la vitamina E parece estar relacionado principalmente con su función antioxi-

dante. La vitamina E podría funcionar bien disminuyendo las concentraciones de especies reactivas de oxígeno (p. ej., peróxido de hidrógeno), y por tanto previniendo el daño oxidativo de las células inmunológicas y fagocíticas estimuladas, o bien modulando la producción de metabolitos del ácido araquidónico, tales como las prostaglandinas.

7. Nutrición y alergia

La incidencia de enfermedades alérgicas, las cuales son causa importante de morbilidad en los países industrializados, se ha incrementado de forma importante durante los últimos años. El desarrollo de estas enfermedades depende por un lado de factores hereditarios, por lo cual es importante identificar a los neonatos de alto riesgo de acuerdo a sus antecedentes familiares, y por otro lado de factores ambientales, tales como la exposición temprana a determinados alergenos. Las alergias alimentarias son frecuentemente las manifestaciones más tempranas, siendo la alergia a las proteínas de la leche de vaca la más común en niños menores de 1 año (2-3%), posiblemente porque ésta es normalmente la primera fuente de proteínas a la que se exponen.

La inducción de hiporrespuesta inmunológica antígeno-específica (tolerancia oral) es la reacción normal tras la exposición a un antígeno alimentario y juega un papel fundamental en la prevención de la alergia alimentaria. Cuando se produce un desequilibrio en este proceso, especialmente en neonatos y niños pequeños con elevado riesgo alérgico, la exposición a una concentración elevada de proteínas extrañas puede incrementar el riesgo de sensibilización desencadenando la respuesta de tipo alérgico.

Independientemente de cuál sea la vía de entrada de un antígeno (a través de las placas de Peyer o a través del epitelio que cubre la lámina propia), normalmente va a interaccionar con una célula presentadora de antígeno (APC), y ésta va a presentar dicho antígeno a una célula T colaboradora ($CD4^+$) nativa. Una vez que se produce dicho proceso, las células $CD4^+$ estimuladas por el antígeno pasan al torrente sanguíneo, vía conducto torácico, pero este proceso, a su vez, es diferente en función de la naturaleza del antígeno.

Cuando se trata de organismo invasivo o patógeno, se induce un fenómeno de inflamación local debido a los efectos de productos derivados de patógenos mediados a través de receptores llamados ***T**oll-**L**ike **R**eceptors* (TLR), que son expresados por células mesenquimales, macrófagos y células epiteliales. Como resultado, las células dendríticas de las placas de Peyer o de la lámina propia maduran completamente tras capturar el antígeno y producen IL-12, la cual va a favorecer la diferenciación de células $CD4^+$ nativas fundamentalmente hacia células Th1 que producen IFN-γ y más inflamación, aunque también estas células dendríticas van a favorecer la diferenciación hacia células Th2 que producen citokinas como IL-4, e IL-5, las cuales promueven la respuesta local de IgA.

Cuando, por el contrario, proteínas alimentarias y productos de bacterias comensales son capturados por células dendríticas, en ausencia de inflamación, otros factores tales como PGE_2, producida por células mesenquimales y macrófagos, y TGF-β, producido por células epiteliales, promueven la maduración parcial de células dendríticas (células "no profesionales"). Estas células presentan el antígeno a células T $CD4^+$, y éstas se diferencian hacia células T reguladoras que producen fundamentalmente IL-10 y células Th3 que producen TGF-β. Las consecuencias inmunológicas de este proceso son la estimulación de la producción local de IgA, tolerancia sistémica y homeostasis inmunológica local.

Este fenómeno, denominado como tolerancia oral, ocurre normalmente tras la exposición a un antígeno alimentario y, como se ha comentado anteriormente, juega un papel fundamental en la prevención de la alergia alimentaria. Cuando se produce un desequilibrio en este proceso, especialmente en neonatos y niños pequeños con elevado riesgo alérgico, la exposición a una concentración elevada de proteínas extrañas puede incrementar el riesgo de sensibilización desencadenando la respuesta de tipo alérgico.

La duración de la lactancia materna parece tener alguna influencia sobre la prevalencia de atopia. Estudios sobre lactancia materna prolongada han demostrado profilaxis frente a enfermedad atópica hasta los 3 años de edad o incluso hasta los 17 años. La supresión de fórmulas basadas en leche de vaca y el uso de una dieta de eliminación durante la lactancia han resultado disminuir la

atopia en niños de alto riesgo. Se pueden detectar bajas concentraciones de proteínas de leche de vaca en leche materna, por lo que la eliminación de productos lácteos en la dieta de la madre podría reducir esos niveles significativamente. Aunque estos hallazgos sugieren un efecto protector de la lactancia materna, los resultados son inconsistentes, principalmente debido a la multitud de variables confusas. Se necesitan estudios epidemiológicos controlados de forma más cuidadosa antes de establecer conclusiones definitivas acerca de este tópico.

Los potenciales efectos preventivos derivados de la lactancia materna podrían deberse a efectos directos de la leche humana en el tracto intestinal o a efectos indirectos relacionados con el estilo de vida de las madres que alimentan predominantemente al pecho. La inhibición de la absorción intestinal de antígenos alimentarios por la sIgA y el mantenimiento de la barrera protectora natural de la mucosa intestinal frente a sustancias extrañas presentes en los alimentos constituyen los principales efectos directos. Por otro lado, la menor incidencia de fumadoras entre madres que alimentan al pecho es uno de los efectos indirectos. También, los niños alimentados al pecho son cuidados habitualmente en casa y por tanto están expuestos con menor frecuencia a problemas relacionados con guarderías. La lactancia materna puede también dar lugar a una exposición disminuida o retardada a otros alimentos.

La idea de que la leche humana, al contrario que las fórmulas basadas en leche de vaca, previene la enfermedad alérgica ha conducido a fabricar una amplia variedad de fórmulas hipoalergénicas que minimizan el componente proteico nativo de las fórmulas artificiales. La descripción de los diferentes tipos de fórmula así como de las recomendaciones de su uso para la prevención y/o el tratamiento de la alergia alimentaria corresponde al Capítulo 4.42.

No obstante, es importante reseñar que direcciones futuras en el desarrollo de fórmulas infantiles incluyen el uso de la biotecnología para producir fórmulas que puedan excluir genéticamente epítopos alergénicos, e intentar mimetizar la composición de la leche humana tanto como sea posible para crear fórmulas más hipoalergénicas.

Sin embargo, hay otros factores que también deben tenerse en cuenta. La edad de introducción de alimentos sólidos ha sido propuesta como un factor importante en la inducción de alergia alimentaria, aunque la introducción retardada de un simple alérgeno ha demostrado posponer, pero no prevenir, el desarrollo de la alergia alimentaria respectiva. Una buena estrategia para disminuir el desarrollo de atopia en la infancia incluiría la lactancia materna exclusiva prolongada, la supresión por parte de la madre de leche, huevos, cacahuetes y pescado en su dieta, durante la lactancia, y la introducción retardada de alimentos sólidos después de los primeros 6 meses de vida. Igualmente, hay una serie de alimentos que deben ser evitados por niños con alto riesgo de atopia, tales como leche, huevos, soja, cacahuetes, pescado, trigo y pollo.

Uno de los mecanismos estudiados recientemente en el desarrollo de alergias y asma concierne al papel de los radicales libres de oxígeno. Se ha postulado que en enfermedades inflamatorias, tales como asma, uno de los mecanismos patológicos incluye la generación de radicales libres por parte de una variedad de células inflamatorias, y que son los radicales libres de oxígeno los que causan el daño oxidativo tisular. Si los suplementos dietéticos antioxidantes tienen o no un efecto protector sobre el desarrollo de alergias, no está claro, pero se ha propuesto el uso de varios minerales y vitaminas con efectos protectores antioxidantes, tales como zinc, selenio, magnesio, manganeso y vitaminas C y E, para esta potencial finalidad.

Por otro lado, una dieta con una concentración alta de ácido linoleico puede inducir cantidades incrementadas de ácido araquidónico, que, a su vez, puede conducir a una producción incrementada de leucotrienos por parte de ciertos tipos celulares. Teniendo en cuenta la importancia de los leucotrienos en la condición asmática, puede haber un potencial para la modificación de la dieta como uno de los medios de controlar el asma, aunque existen pocas evidencias al respecto. Los efectos potenciales del uso de aceite de pescado para este fin derivan de su alta concentración en ácido eicosapentaenoico (EPA) y DHA. El EPA desplaza al ácido araquidónico en el metabolismo oxidativo de esta clase de ácidos grasos poliinsaturados. Es interesante resaltar que se ha descrito una disminución en los niveles de ácido araquidónico y de ácido dihomo-γ-linoleico al primer y tercer mes de vida en sangre de cordón de niños alimentados

con fórmula con respecto a niños con lactancia materna. Este descenso era mayor en aquellos niños que posteriormente desarrollaban enfermedad atópica. Estos resultados contradicen otros estudios que sugieren que el incremento en los niveles de sustratos de la vía del ácido araquidónico, tales como el ácido linoleico, incrementan la incidencia de enfermedad atópica. Éste constituye otro ejemplo de la controversia de resultados y de la necesidad de desarrollar estudios más controlados antes de establecer conclusiones definitivas al respecto.

8. Probióticos y sistema inmunológico

Los cambios en las condiciones higiénicas y los hábitos nutricionales son dos factores ambientales estrechamente relacionados con el estilo de vida moderno en países desarrollados. Ha habido un descenso en la incidencia de estimulación microbiana por enfermedades infecciosas como resultado de la mejora de las condiciones higiénicas, las campañas de vacunación y la medicación antimicrobiana. Más aún, hoy en día la dieta humana contiene varios miles menos de bacterias que años atrás, debido a la mejora del procesado industrial y casero de los alimentos y a su conservación. Como resultado de estos cambios en el estilo de vida, los componentes de nuestro medioambiente bacteriano no patogénico, que es potencialmente beneficioso para el ser humano, han cambiado significativamente.

El uso incrementado de alimentos funcionales para mejorar la salud general y prevenir la incidencia de enfermedades crónicas ha cobrado gran interés dentro de la comunidad nutricional. De entre los muchos alimentos funcionales disponibles, los probióticos han sido muy bien estudiados con respecto a la prevención de enfermedades, y promocionados de forma activa en Europa, Japón y Estados Unidos. Los probióticos se definen como suplementos alimentarios microbianos vivos que afectan beneficiosamente al huésped, bien directamente o indirectamente, a través de la mejora del balance microbiano intestinal. Los probióticos más usados hasta el presente incluyen lactobacilos (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus strain GG ATCC 53103*, *L. bulgaricus*, *L. reuteri*, *L. plantarum*) y bifidobacterias (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. animalis*) (*ver Capítulo 4.43*).

El desarrollo de probióticos eficaces tiene como objetivo proveer estímulos microbianos para el sistema inmunológico del huésped por medio de cultivos microbianos vivos que son característicos de la microbiota intestinal del individuo sano. Las bacterias probióticas han demostrado reforzar las diferentes líneas de defensa intestinal, las cuales incluyen la exclusión inmunológica, dirigida hacia la exclusión de antígenos, la eliminación inmunológica de antígenos que penetran a través de la mucosa y la regulación de las correspondientes respuestas inmunológicas específicas de antígeno.

Se han documentado varias aplicaciones clínicas relacionadas con el uso de probióticos. Quizás la más importante sea el manejo de la diarrea de tipo infeccioso, especialmente en la infancia. Aparte de competir directamente en cuanto a la colonización intestinal se refiere con la microbiota de tipo infeccioso, la disminución de la incidencia y duración de los episodios de diarrea puede también deberse al efecto que los probióticos pueden tener al estimular la respuesta inmunológica a nivel intestinal. Por otro lado, otra aplicación derivada del uso de probióticos, la cual está cobrando un enorme interés durante los últimos años, es la disminución de la incidencia de enfermedad atópica, de acuerdo con la hipótesis higiénica desarrollada en los países escandinavos (*ver Capítulo 4.43*).

8.1. Probióticos y estimulación de la respuesta inmunológica

Los mecanismos por los cuales los probióticos afectan al sistema inmunológico son en su mayor parte desconocidos. Los probióticos pueden proteger el intestino compitiendo con los patógenos por la adherencia, reforzando las uniones entre enterocitos, e incrementando la respuesta inmunológica frente a patógenos; componentes de la pared celular y DNA bacterianos pueden también estar involucrados. La colonización intestinal se acompaña de un incremento en el número de linfocitos intestinales y en la maduración de la función inmunológica de las mucosas, y los antígenos de bacterias presentes en el lumen intestinal estimulan respuestas específicas en el GALT.

La activación de linfocitos intraepiteliales (IEL) por parte de bacterias o productos bacterianos puede dar lugar a modificaciones en el fenotipo de células del epitelio intestinal. Se ha demostrado que el IFN-γ derivado de IEL activados puede inducir la expresión de marcadores inmunológicos, tales como MHC de clase I, por parte de células del epitelio intestinal. Además, la ausencia de expresión de MHC de clase II durante el periodo neonatal o en animales libres de gérmenes sugiere poderosamente un papel para la microbiota normal en la regulación inmunológica a nivel del compartimento epitelial.

Las bacterias ácido-lácticas, solas o en combinación de IFN-γ, al contrario que las bacterias patogénicas, no muestran ningún efecto agonista estimulando la producción de citokinas proinflamatorias, lo cual sugiere que los probióticos podrían participar en la protección tisular frente al efecto deletéreo de un proceso inflamatorio establecido.

Evidencias experimentales muestran claramente que la microbiota bacteriana indígena es el estímulo primario para el desarrollo de células plasmáticas secretoras de IgA. La capacidad para generar células productoras de IgA se inicia con el establecimiento de la microbiota intestinal, pero cae con el establecimiento de una respuesta de IgA específica frente a una variedad de bacterias translocantes, reflejando la maduración de los mecanismos de defensa del intestino. Además, hay una reducción en el número de linfocitos de lámina propia y en la concentración de inmunoglobulinas séricas, y el bazo y los ganglios linfáticos de animales libres de gérmenes están pobremente desarrollados, debido a la ausencia de estimulación antigénica. En estos animales, la producción de anticuerpos IgE, tras la administración oral de ovoalbúmina, se mantiene hasta que son colonizados por la microbiota intestinal en la época neonatal, pero no posteriormente. Estos resultados sugieren que la microbiota intestinal dirige la regulación de la capacidad de respuesta inmunológica local y sistémica, afectando el desarrollo del GALT durante la infancia temprana. Resultados similares han sido obtenidos en niños nacidos a través de cesárea, en los cuales la colonización se asocia a la maduración de los mecanismos inmunológicos humorales, particularmente de células secretoras de IgA e IgM circulantes. Además, los agregados linfoides de animales libres de gérmenes carecen de centros germinales y el desarrollo de este compartimento de células B depende de una respuesta inmunológica específica frente a las bacterias colonizantes.

Diversos estudios clínicos han demostrado el efecto beneficioso del consumo de probióticos sobre la producción de IgA. Así, la terapia con *Lactobacillus GG* (LGG) se ha asociado a un incremento de células secretoras de anticuerpos IgA específicos frente a rotavirus. De igual modo, la administración de una fórmula suplementada con *Bifidobacterium lactis,* cepa *Bb-12*, a niños entre 15 y 31 meses de edad durante 21 días dio como resultado niveles significativamente más altos de IgA total en heces y de IgA antipoliovirus que antes de la ingesta de los probióticos. La **Tabla 4** muestra diversos estudios que han evaluado la influencia de probióticos sobre la respuesta inmunológica en niños.

8.2. Probióticos y prevención de la respuesta atópica

El abordaje tradicional de la hipersensibilidad a alimentos, de la cual la enfermedad atópica constituye una de sus manifestaciones, ha sido la eliminación de potenciales proteínas agresivas en la dieta. La microbiota intestinal puede contribuir al procesado de antígenos alimentarios en el intestino, y los probióticos podrían modificar la estructura de antígenos potenciales y reducir su inmunogenicidad. Además, la microbiota intestinal contribuye a la generación de una población de células T colaboradoras capaz de inducir tolerancia oral, lo cual ofrece una nueva aproximación terapéutica para el manejo de los desórdenes de hipersensibilidad. Un reciente ensayo randomizado placebo-control **(Tabla 4)** ha mostrado que la administración prenatal de LGG a madres que han tenido al menos un familiar en primer grado con eczema atópico, rinitis alérgica, o asma, y posnatal a sus respectivos hijos durante 6 meses previene el desarrollo de enfermedad atópica temprana. Si este efecto se confirma en otros estudios y es aplicable a otras enfermedades alérgicas, el uso de probióticos representaría un importante avance terapéutico.

Los mecanismos por los cuales los probióticos pueden afectar a la enfermedad atópica son meramente especulativos. Sin embargo, existen evidencias crecientes de que la influencia específica de

Tabla 4. ESTUDIOS PARA EVALUAR LA INFLUENCIA DE PROBIÓTICOS SOBRE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA EN NIÑOS

Estudio	Probiótico usado	Tiempo de estudio	Población estudiada	Diseño	Resultados
Majamaa *et al*. *J Ped Gastroenterol Nutr* 1995; 20: 333-8	*Lactobacillus casei GG, L. casei* sp. *rhamnosus*, o una combinación de *Streptococcus thermophillus* y *L. delbrückii* sp. *bulgaricus*	5 días	Niños de 6-35 meses con gastroenteritis aguda por rotavirus	Lineal sin control placebo. Dosis de bacterias ácido-lácticas: 2 veces al día durante 5 días	Terapia con LGG asociada a incremento de células secretoras de anticuerpos IgA específicos y de los niveles de IgA sérica
Fukushima *et al*. *Int J Food Microbiol* 1998; 42: 39-44	*Bifidobacterium lactis* Bb-12	21 días	Niños de 15-31 meses	Lineal sin control placebo. Fórmula de continuación con probióticos	Niveles fecales incrementados de sIgA tota y de sIgA antipoliovirus
Kalliomäki *et al*. *Lancet* 2001; 357: 1076-9	*Lactobacillus rhamnosus*	6 meses	Prenatal a madres y postnatal a niños	Ensayo controlado doble-ciego, aleatorizado placebo-control	LGG efectivo en la prevención de enfermedad atópica temprana

la microbiota fecal sobre el sistema inmunológico innato es esencial para el establecimiento y mantenimiento del sistema inmunológico de las mucosas. Hidratos de carbono ricos en manosa de bacterias interaccionan con receptores específicos presentes en células dendríticas y macrófagos, dirigiéndose a compartimentos endosomales con eficiencia incrementada de presentación antigénica. Del mismo modo, epítopos glicanos de la superficie bacteriana son reconocidos por anticuerpos secretados por células B-1 peritoneales e intestinales, distribuidas en la lámina propia y en el compartimento epitelial, dando lugar a la activación de células T y del complemento.

Más aún, un amplio espectro de O- y N-glicanos ligados a bacterias pueden ser reconocidos por componentes del complemento y colocalizarse con anticuerpos naturales, resultando en la opsonización y regulación de la activación de células T y la tolerancia de células B por selección negativa. En particular, las proteínas *toll*-relacionadas TLR2, TLR4 y TLR9, expresadas por ambos, enterocitos y células inmunológicas, reconocen TLR2-peptidoglicanos, TLR4-lipopolisacárido y TLR9-citidina guanosina fosfato, respectivamente, e inducen la producción de citokinas Th1 a través de un proceso dependiente del factor-κB nuclear (NF-κB).

Es probable que algunos de los efectos beneficiosos de las bacterias probióticas en la enfermedad alérgica residan en su habilidad para alterar la permeabilidad mucosal. Sin embargo, es posible que las bacterias intestinales puedan dirigir el sistema inmunológico intestinal hacia una respuesta Th1 o Th2. Se ha descrito que LGG y algunos estreptococos activan los mecanismos de señal NF-κB y STAT en macrófagos humanos. Este efecto únicamente explicaría el descenso de la alergia Th2-mediada. Sin embargo, la falta de respuesta inmunológica específica frente a componentes de la dieta (tolerancia oral) y frente a bacterias comensales es críticamente dependiente de la inhibición de la reactividad linfocitaria potencial, siendo dos

poblaciones celulares supresoras, recientemente descubiertas, fundamentales en este proceso. Se ha demostrado en modelos murinos que células Th3 y T1 reguladoras (Tr1), las cuales producen factor de crecimiento transformante-β (TGF-β) e interleukina 10 (IL-10), respectivamente, regulan negativamente respuestas inflamatorias mucosales a través del fenómeno conocido como *by-stander suppression* de linfocitos cercanos de diversas especificidades; la deficiencia bien de citokinas o del tipo celular conduce a inflamación mucosal como consecuencia de la respuesta desenfrenada frente a la microbiota enteral. Un estudio en ratones transgénicos con una única población linfocitaria específica para antígenos de la dieta sugiere que el papel de *Lactococcus lactis* en la generación de linfocitos reguladores conduce a la tolerancia oral, a través de la inducción de la producción de PGE_2, vía IL-10 y TGF-β. Estos resultados sugieren que los cambios masivos en la colonización inicial del intestino durante el pasado siglo pueden ser responsables del incremento en la prevalencia de alergia.

La adhesion de bifidobacterias fecales en niños sanos, caracterizados por tener altos niveles de *B. bifidum*, es significativamente más alta que en niños alérgicos, cuya microbiota está compuesta por altos niveles de *B. adolescentis*. Esto sugiere una correlación entre la enfermedad alérgica y la presencia de microbiota intestinal con reducida habilidad de adherirse al mucus intestinal.

Además de los efectos de LGG reduciendo diversos indicadores de inflamación en la enfermedad alérgica, LGG y *L. plantarum* 299v parecen capaces de reducir la translocación de ambos, bacterias y antígenos. Los efectos de los probióticos sobre enfermedades inflamatorias han sido demostrados elegantemente en modelos animales, particularmente en ratas, tras la administración de metotrexato. En este modelo, los probióticos reducen la translocación bacteriana e incrementan la regeneración de la mucosa.

Existen razones teóricas por las cuales los probióticos podrían ser efectivos en el tratamiento de enfermedades inflamatorias tales como enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y enterocolitis necrotizante. Sin embargo, la utilidad de los probióticos en individuos con enfermedades inflamatorias debe ser estudiada de forma más controlada. Es probable que las bacterias ácido-lácticas puedan reducir la inflamación previniendo el sobrecrecimiento de bacterias potencialmente patogénicas, así como manteniendo la integridad de la barrera intestinal.

9. Nutrición y respuesta inmunológica en la vejez

El incremento progresivo en la proporción, así como en el número absoluto de individuos con más de 50 años, ha despertado el interés en conocer cuáles son sus necesidades fisiológicas y, entre ellas, las del sistema inmunológico. Es bien conocido que en muchos sujetos ancianos el sistema inmunológico no es capaz de proveer defensa frente a microorganismos, células malignas y otros agentes extraños. Los cambios en la inmunidad asociados a la vejez incluyen hipersensibilidad retardada reducida, disminución en la producción de IL-2, respuesta linfocitaria a mitógenos y antígenos disminuida, bajo grado de seroconversión y título de anticuerpos reducido tras vacunación. Asimismo, la disfunción inmunológica demostrada a través de la prevalencia de autoanticuerpos también está incrementada en la vejez.

El número de células pluripotentes con habilidad para colonizar sitios linfáticos periféricos y madurar a células competentes también desciende con la edad. La capacidad de células madre para proliferar de forma clonal disminuye y la generación de células B y migración de células precursoras hacia el timo se reduce. Esta restricción en la cinética de células madre y reservas puede ser crítica para adoptar una respuesta efectiva a distintos tipos de estrés, tales como la infección. Pacientes ancianos con sepsis a menudo fallan para adoptar una respuesta de leucocitosis, a pesar de presentar el típico desvío hacia la izquierda de los leucocitos polimorfonucleares inmaduros que ocurre en estas situaciones. Asimismo, para muchos antígenos la producción de anticuerpos por células B requiere la generación de factores colaboradores por parte de células T. Las respuestas de anticuerpos frente a tales antígenos están disminuidas en la vejez y la afinidad de los anticuerpos puede estar reducida.

Debido a numerosas razones los individuos ancianos tienden a tener una alta prevalencia de deficiencias nutricionales. Se estima que aproximadamente el 35% de las personas con más de

50 años tiene una deficiencia demostrable de una o más vitaminas y elementos traza. Aunque en la mayoría de los casos estas deficiencias son subclínicas, pueden dar lugar a efectos fisiológicos significativos, principalmente sobre el sistema inmunológico y la función cognitiva. Las deficiencias inmunológicas se traducen clínicamente en una incidencia incrementada de infecciones comunes en las vías respiratorias altas y bajas, y en los tractos genital y urinario.

Varios nutrientes han mostrado tener importantes efectos sobre parámetros de laboratorio e indicadores de salud en los ancianos. Entre éstos, se encuentran la vitamina B_6, el zinc y bajas dosis de vitamina E, ya que altas dosis de esta vitamina se han asociado a inhibición de la respuesta inmunológica. Debido a que las deficiencias nutricionales que se detectan en la vejez normalmente son debidas a más de un micronutriente y, puesto que existen interesantes interacciones entre micronutrientes, varios estudios han examinado el efecto de combinaciones de vitaminas y elementos traza sobre respuestas inmunológicas e incidencia de infección. Así, la administración de un suplemento con múltiples micronutrientes, con cantidades incrementadas de vitamina C, vitamina E y β-caroteno, se ha asociado a un aumento en el número de células T, respuesta linfocitaria incrementada a mitógenos, aumento en la producción de IL-2, mayor actividad de células NK, y respuesta incrementada a la vacuna del virus de la gripe, en comparación con el grupo de individuos que recibieron un placebo. Además, los sujetos que recibieron el suplemento experimentaron un menor número de infecciones que los sujetos controles.

Todos estos resultados indican que existe una correlación entre el estado nutricional y la incidencia de infecciones en sujetos ancianos. En estos individuos, el uso de modestos suplementos de micronutrientes mejora la respuesta inmunológica, y reduce de forma significativa la incidencia de infecciones, principalmente respiratorias, y el uso de antibióticos.

10. Inmunonutrición

La capacidad para modular la actividad del sistema inmunológico a través de intervenciones con nutrientes específicos se denomina "inmunonutrición". Este concepto se puede aplicar a cualquier situación en que se use una suplementación alterada de nutrientes para modificar la respuesta inflamatoria o inmunológica. Sin embargo, el concepto de inmunonutrición se ha asociado estrechamente a los intentos de mejorar el curso clínico de pacientes críticos y pacientes quirúrgicos, los cuales a menudo requieren un suplemento exógeno de nutrientes vía parenteral o enteral.

Las intervenciones quirúrgicas van seguidas de un periodo de inmunosupresión que incrementa el riesgo de morbilidad y mortalidad debidas a la infección. La mejora de la función inmunológica durante este periodo puede reducir las complicaciones debidas a la infección. Los pacientes críticos están expuestos a un riesgo aún mayor de complicaciones adversas. En estos pacientes ocurren cambios inmunológicos e inflamatorios complejos y variables, que sólo últimamente están siendo bien definidos. En muchos de estos pacientes, se ve una respuesta bifásica con una respuesta hiperinflamatoria seguida de una respuesta compensatoria excesiva asociada con inmunosupresión. En estos pacientes, se requiere un tratamiento temprano disminuyendo la respuesta inflamatoria en lugar de incrementarla, para abrogar la hiperinflamación y prevenir la inmunosupresión compensatoria.

La adición de nutrientes inmunomoduladores a fórmulas enterales se ha examinado en ensayos clínicos y metaanálisis, en los cuales se ha evaluado la adición de ácidos grasos n-3, arginina y nucleótidos a fórmulas completas nutricionalmente. Es importante destacar que en estos estudios se ha evaluado la combinación de estos tres ingredientes, por lo que no se ha podido dilucidar si los potenciales efectos beneficiosos se deben a uno o a otro ingrediente. Por otro lado, la glutamina se considera como un aminoácido condicionalmente esencial para el óptimo funcionamiento del sistema inmunológico en pacientes quirúrgicos o con trauma múltiple. Así, fórmulas enterales enriquecidas con glutamina han demostrado su eficacia, al disminuir la morbilidad infecciosa en este tipo de pacientes (*ver Capítulo 1.15*).

A pesar de los defectos en muchos estudios, se ha observado una tendencia consistente a complicaciones infecciosas reducidas en pacientes que reciben inmunonutrición, especialmente en pacien-

tes con cirugía de cáncer gastrointestinal alto o de traumas. Sin embargo, en pacientes críticos los resultados no están tan claros. Un defecto común en estos estudios es el fallo en proporcionar un volumen nutricional adecuado, ya que, al menos teóricamente, se requiere un mínimo de inmunonutrición para lograr una reducción efectiva en la incidencia de infecciones. Cuando los volúmenes de alimentación son bajos, la inmunonutrición no tiene un comportamiento mejor que un control isonitrogenado. Por otro lado, la administración temprana de inmunonutrición, de forma preoperatoria en pacientes quirúrgicos con cáncer, podría ser particularmente beneficiosa, así como las fórmulas enterales enriquecidas con glutamina. Otra consideración importante es la gravedad de la enfermedad. El uso de inmunonutrición en enfermedad moderada es más que probable que resulte beneficioso, mientras que la sepsis severa está probablemente más allá de alcanzar algún beneficio por intervención nutricional, y la enfermedad leve es también más que probable que mejore independientemente de cuál sea el tipo de alimentación. También es importante destacar que, a pesar de los potenciales efectos beneficiosos detectados, la mayoría de los ensayos han sido negativos en cuanto a variables importantes, tales como la mortalidad.

Finalmente, es importante resaltar que los AGPI n-3 han mostrado también un excelente resultado en la prevención y tratamiento de la caquexia, pérdida de peso inducida por el cáncer, siendo actualmente utilizados en fórmulas enterales especialmente diseñadas para este tipo de pacientes. Dicho efecto se debe, entre otras causas, a la regulación negativa que ejercen estos ácidos grasos, en especial, el EPA, sobre la producción de ciertas citokinas proinflamatorias, tales como IL-1β, IL-6 o TNF-α, las cuales son uno de los principales factores desencadenantes de la respuesta caquéctica en el paciente canceroso. El resultado es una disminución de la respuesta inflamatoria, y una atenuación de la pérdida de peso inducida por el cáncer y, por tanto, se podría considerar la utilización de AGPI n-3 (en especial, de EPA), en pacientes cancerosos con caquexia, como otro ejemplo de inmunonutrición.

11. Resumen

- Durante los últimos años, ha habido un gran interés por determinar los mecanismos que regulan la función inmunológica intestinal, así como por entender cómo nutrientes específicos interaccionan con el tejido linfoide asociado al intestino. Sin embargo, quedan por despejar muchas incógnitas acerca de esta interacción y de sus potenciales repercusiones sobre la inmunidad sistémica. No obstante, parece claro que los nutrientes actúan como factores críticos en la regulación de la respuesta inmunológica, especialmente durante ciertos periodos críticos, tales como la etapa neonatal y la vejez.

- Por otro lado, la microbiota gastrointestinal modula la respuesta inmunológica estimulando la producción de factores de crecimiento, citokinas y moléculas reguladoras, las cuales controlan selectivamente la función inmunológica regional. Además, algunos microorganismos, tales como las bacterias ácido-lácticas, promueven directamente el desarrollo de la barrera mucosa a través de la estimulación de la respuesta inmunológica.

- La leche humana contiene diversos factores, tales como células de estirpe inmunológica, sIgA, lactoferrina, lisozima, péptidos de caseína, factores de crecimiento, citokinas, poliaminas, nucleótidos, oligosacáridos complejos, gangliósidos, ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, y otros componentes menores, que influencian directamente la respuesta y actividad del sistema inmunológico en el neonato. Todos estos agentes inmunomoduladores contribuyen a estimular el sistema inmunológico, el cual no está totalmente desarrollado en el recién nacido, y a desarrollar una respuesta adecuada frente a las agresiones al sistema. La lactancia materna también parece tener alguna influencia sobre la prevalencia de atopia. Los efectos preventivos derivados de la leche humana pueden deberse a efectos directos de sus componentes sobre el tracto gastrointestinal, o a efectos indirectos relacionados con el estilo de vida de las personas que alimentan predominantemente al pecho. En cualquier caso, ambos tipos de efectos parecen contribuir al desarrollo adecuado del fenómeno conocido como tolerancia oral.

- Los países occidentales han desarrollando un incremento progresivo en el número de problemas de salud relacionados con el intestino mediados inmunológicamente, tales como alergias, y enfermedades inflamatorias y autoinmunes. La mejoría en las condiciones de higiene, las campañas de vacunación, la medicación antimicrobiana, así como cambios significativos en las bacterias patogénicas de nuestro medio ambiente han determinado una menor incidencia de estimulación del sistema inmunológico del huésped. Es por ello por lo que el uso de alimentos funcionales que contienen probióticos ha despertado un gran interés en los últimos tiempos, habiéndose demostrado su utilidad, particularmente en la prevención y tratamiento de la diarrea aguda, así como en la prevención del desarrollo de enfermedades atópicas durante la infancia.

- Distintos estudios indican que existe una correlación entre el estado nutricional y la incidencia de infecciones en sujetos ancianos. En estos individuos, el uso de modestos suplementos de micronutrientes mejora la respuesta inmunológica, y reducen de forma significativa la incidencia de infecciones, principalmente respiratorias, y el uso de antibióticos. Asimismo, el uso de inmunonutrientes en ciertas situaciones patológicas ha mostrado diversos efectos clínicos beneficiosos, particularmente en pacientes quirúrgicos. Sin embargo, quedan muchas incógnitas sobre la eficacia de la inmunonutrición en pacientes críticos, con hallazgos contradictorios entre distintos ensayos.

12. Bibliografía

Brandtzaeg P. Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant. Vaccine 2003; 21: 3382-8.
Revisión actualizada que describe la integración de la glándula mamaria como una parte esencial del sistema inmunológico de las mucosas, resaltando los aspectos beneficiosos que la lactancia materna tiene sobre el desarrollo de la inmunidad en el neonato.

Calder PC. Immunonutrition may have beneficial effects in surgical patients. BMJ 2003; 327: 117-8.
Artículo breve que describe el término inmunonutrición como la incorporación de inmunonutrientes a fórmulas enterales y parenterales para mejorar el curso clínico de pacientes críticos y pacientes quirúrgicos. También resume los principales ensayos con inmunonutrientes, indicando diversos efectos clínicos beneficiosos, particularmente en pacientes quirúrgicos.

Calder PC, Kew S. The immune system: a target for functional foods? Br J Nutr 2002; 88: S165-76.
Revisión actualizada que resume algunos aspectos destacados de la influencia de nutrientes específicos sobre parámetros de la inmunidad. Se describe el estado nutricional como uno de los factores importantes que contribuyen a la competencia inmunológica; asimismo, se describen muchos de los interrogantes que permanecen aún sin aclarar acerca de esta interacción.

Chandra RK. Nutrition and the immune system from birth to old age. Eur J Clin Nutr 2002; 56 (Suppl 3): S73-6.
Artículo breve que resume los aspectos más destacados de la influencia de la nutrición sobre la inmunidad, especialmente durante periodos críticos de la vida, tales como el nacimiento y la vejez.

Cunningham-Rundles S, Ho-Lin D. Nutrition and the Immune System of the Gut. Nutrition 1998; 14: 573-9.
Buena revision acerca de la influencia de la nutrición sobre la inmunidad intestinal.

Gershwin ME, German JB, Keen CL. Nutrition and Immunology: Principles and Practice. Humana Press. Totowa, 2000.
Único libro actualmente disponible sobre nutrición e inmunidad, que trata de la mayoría de los temas recogidos en este Capítulo.

Gil A, Rueda R. Interaction of early diet and the development of the immune system. Nutrition Research Reviews 2002; 15: 263-92.
Revisión actualizada sobre la influencia de la nutrición en el desarrollo del sistema inmunológico durante las primeras etapas de la vida.

McCowen KC, Bistrian BR. Immunonutrition: problematic or problem solving? Am J Clin Nutr 2003; 77: 764-70.
Revisión actualizada que describe el uso de fórmulas enterales con inmunonutrientes incorporados y los principales problemas derivados de su uso en determinados tipos de patología. Asimismo, resume los metaanálisis que recogen los principales estudios clínicos al respecto, destacando en cuáles de ellos la inmunonutrición ha demostrado su eficacia.

Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. Nature Reviews Immunology 2003; 3: 331-41.
Muy buena revisión que explica detalladamente y con muy buenas ilustraciones cuáles son los mecanismos que regulan el desarrollo del fenómeno conocido como tolerancia oral, y cómo las alteraciones de estos mecanismos conducen al desarrollo de la alergia alimentaria.

Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J, McGhee JR. Mucosal Immunology, 2nd ed. Academic Press. San Diego, 1999.
El mejor tratado disponible sobre la inmunología de las mucosas. Muy útil para entender el funcionamiento del sistema inmunológico intestinal y su relación e interacción con la inmunidad sistémica.

Rueda R, Gil A. Influence of dietary compounds on intestinal immunity. Microbial Ecology in Health and Disease 2000; Suppl 2: 146-56.
Revisión sobre la influencia de componentes de la dieta sobre la inmunidad, haciendo especial hincapié en el sistema inmunológico intestinal y en las primeras etapas de la vida.

Sadler MJ, Strain JJ, Caballero B. Encyclopaedia of Human Nutrition. Academic Press. San Diego, 1999.
Enciclopedia de 3 tomos donde se pueden encontrar prácticamente todos los conceptos relativos al campo nutricional, entre ellos, algunos que hacen referencia a la interacción entre Nutrición e Inmunidad.

13. Enlaces web

- www.lww.com/product/0,0,3756,00.html
- www.wkap.nl/prod/b/0-306-31058-9
- www.chiro.org/nutrition/Immunity.shtml
- www.50plushealth.co.uk/index.cfm?articleid=2504
- www.foodallergy.org
- www.inta.cl/revista/detalle.asp?codigo_revista=5&Id=43
- www.espghan.org
- www.espen.org
- www.socmucimm.org
- www.immunology.org
- www.eaaci.org
- www.seaic.es
- www.immunologylink.com
- www.jpgn.org
- www.immunity.com
- www3.oup.co.uk/jnls/list/intimm
- www.jimmunol.org